

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

Dalia Božanović

**PRIMJENA EUTEKTIČKIH OTAPALA U REAKCIJI KVATERNIZACIJE
IZONIKOTINAMIDA I SUPSTITUIRANIH 2-BROMACETOFENONA**

DIPLOMSKI RAD

Osijek, svibanj 2019.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek
Zavod za primjenjenu kemiju i ekologiju
Katedra za kemiju i ekologiju
Franje Kuhača 20, 31000 Osijek, Hrvatska

Diplomski sveučilišni studij Prehrambeno inženjerstvo

Znanstveno područje: Prirodne znanosti

Znanstveno polje: Kemija

Nastavni predmet: Organska kemija

Tema rada je prihvaćena na VI redovitoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek u akademskoj godini 2018./2019. održanoj 25. travnja 2019.

Mentor: doc. dr. sc. *Valentina Bušić*

Komentor: Dajana Gašo-Sokač, izv. prof. dr. sc.

Primjena eutektičkih otapala u reakciji kvaternizacije izonikotinamida i supstituiranih 2-bromacetofenona
Dalia Božanović, 0113137603

Sažetak: U ovom su radu izvedene reakcije kvaternizacije izonikotinamida (INA) kao nukleofila s 2-brom-4-kloracetofenonom, 2-bromacetofenonom i 2-brom-4-metilacetofenonom kao elektrofilima. Reakcije kvaternizacije su po prvi put izvršene u eutektičkim otapalima na bazi kolin-klorida (ChCl). Za reakcije su korištene tri metode: konvencionalna metoda uz miješanje i zagrijavanje, metoda pod utjecajem mikrovalnog zračenja te metoda pod utjecajem ultrazvuka. Iz dobivenih je rezultata vidljivo kako su eutektička otapala kao „zeleni“ medij dobra alternativa za izvođenje reakcija kvaternizacije u skladu s principima zelene kemije. Od eutektičkih otapala kao zelenog medija najbolje su se pokazala otapala ChCl : glicerol, ChCl : jabučna kiselina, ChCl : *N*-metilurea, ChCl : levulinska kiselina. Za reakciju kvaternizacije najviši prinosi su postignuti mikrovalnom sintezom gdje je u reakciji INA s 2-bromacetofenonom u eutektičkom otapalu ChCl : glicerol skoro postignuto kvantitativno iskorištenje.

Ključne riječi: zelena kemija, eutektička otapala, izonikotinamid, supstituirani 2-bromacetofenoni, kvaternizacija

Rad sadrži: 60 stranica
25 slika
8 tablica
12 priloga
15 literaturnih referenci

Jezik izvornika: Hrvatski

Sastav Povjerenstva za ocjenu i obranu diplomskog rada i diplomskog ispita:

1.	izv. prof. dr. sc. <i>Maja Molnar</i>	predsjednik
2.	doc. dr. sc. <i>Valentina Bušić</i>	član-mentor
3.	izv. prof. dr. sc. <i>Dajana Gašo-Sokač</i>	član-komentor
4.	izv. prof. dr. sc. <i>Ivica Strelec</i>	zamjena člana

Datum obrane: 29. svibnja 2019.

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek, Franje Kuhača 20, Osijek.

BASIC DOCUMENTATION CARD

GRADUATE THESIS

University Josip Juraj Strossmayer in Osijek
Faculty of Food Technology Osijek
Department of applied chemistry and ecology
Subdepartment of chemistry and ecology
Franje Kuhača 20, HR-31000 Osijek, Croatia

Graduate program Food engineering

Scientific area: Natural science
Scientific field: Chemistry
Course title: Organic chemistry
Thesis subject was approved by the Faculty of Food Technology Osijek Council at its session no. VI held on April 25, 2019
Mentor: *Valentina Bušić*, Assistant Prof., PhD
Technical assistance: Dajana Gašo-Sokač, Associate Prof., PhD

Application of Eutectic Solvents in the Quaternization Reaction of Isonicotinamide and 2-Bromoacetophenones
Dalia Božanović, 0113137603

Summary: In this paper, quaternization reactions of isonicotinamide (INA) as nucleophiles with 2-bromo-4-chloroacetophenone, 2-bromoacetophenone and 2-bromo-4-methylacetophenone as electrophiles were performed. Quaternization reactions were performed for the first time in choline chloride (ChCl) based eutectic solvents. Three methods were used for the reaction: a conventional method with stirring and heating, a method under the influence of microwave irradiation, and an ultrasound method. The results obtained show that eutectic solvents as a "green" medium are a good alternative for carrying out quaternization reactions which is in accordance with the principles of green chemistry. From the eutectic solvents as green media, the most preferred solvents were ChCl : glycerol, ChCl : malic acid, ChCl : *N*-methylurea, ChCl : Levulinic acid. For the quaternization reaction, the highest yields were achieved by microwave synthesis where in the INA reaction with 2-bromoacetophenone in the eutectic ChCl : glycerol solvent was almost achieved quantitative yield.

Key words: green chemistry, eutectic solvents, isonicotinamide, substituted 2-bromoacetophenones, quaternization

Thesis contains: 60 pages
25 figures
8 tables
12 supplements
15 references

Original in: Croatian

Defense committee:

- | | | |
|----|---|--------------|
| 1. | <i>Maja Molnar</i> , PhD, associate prof. | chair person |
| 2. | <i>Valentina Bušić</i> PhD, assistant prof. | supervisor |
| 3. | <i>Dajana Gašo-Sokač</i> , PhD, associate prof. | member |
| 4. | <i>Ivica Strelec</i> , PhD, associate prof. | stand-in |

Defense date: May 29, 2019

Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in Library of the Faculty of Food Technology Osijek, Franje Kuhača 20, Osijek.

Najiskrenije zahvaljujem svojoj mentorici, doc. dr. sc. Valentini Bušić, što mi je omogućila rad pod njezinim okriljem. Hvala za sva prenesena znanja i vještine tijekom eksperimentalnog rada. Vrijeme provedeno s Vama u laboratoriju, manje spretne situacije, trenutke smijeha te proslave, pamtit ću zauvijek. Hvala Vam na uloženom trudu i vremenu, stručnim i mudrim savjetima, razumijevanju te prijateljskoj pomoći tijekom izrade rada, ali i tijekom studiranja!

Zahvaljujem svojoj komentorici, izv. prof. dr. sc. Dajani Gašo-Sokač, na nesebičnoj pomoći, razumijevanju te motivaciji i svemu što me naučila u organskoj kemiji!

Zahvaljujem izv. prof. dr. sc. Maji Molnar, asistentu mag. educ. chem. Mariju Komaru te izv. prof. dr. sc. Ivici Strelec na pomoći i susretljivosti prilikom izrade eksperimentalnog dijela ovoga rada!

Posebno hvala mojoj majci Dragici i sestri Tatjani na strpljenju, razumijevanju i ljubavi koju su mi pružile. Hvala na svakoj riječi potpore i na svemu što ste učinile kako biste mi omogućile završetak studija!

Veliko hvala mom dečku Marku koji mi je bio oslonac tijekom studiranja, bodrio me i ohrabrivao. Hvala ti na svakoj poruci ili pozivu prije ispita, vjeri, strpljenju, riječima podrške i ljubavi!

Hvala Gabrijeli koja je uvijek bila uz mene, hvala na svim skriptama, kavama i prijateljskim druženjima jer bez njih studiranje ne bi bilo isto!

Hvala svima koji su mi na bilo koji način pomogli da ostvarim svoj san!

Hvala Vam,

Dalia Božanović

Ovaj rad je sufinancirala Hrvatska zaklada za znanost projektom "*Zelene tehnologije u sintezi heterocikličkih spojeva*" (UIP-2017-05-6593)

SADRŽAJ

1.	UVOD	8
2.	TEORIJSKI DIO	
2.1.	ZELENA KEMIJA – DEFINICIJA I CILJEVI	3
2.2.	EUTEKTIČKA OTAPALA.....	4
2.2.1.	SVOJSTVA EUTEKTIČKIH OTAPALA	8
2.3.	HETEROCIKLIČKI SPOJEVI.....	10
2.4.	REAKCIJE KVATERNIZACIJE	11
2.5.	PRIMJENA KVATERNIH SOLI	16
3.	EKSPERIMENTALNI DIO.....	
3.1.	ZADATAK.....	19
3.2.	MATERIJALI I METODE.....	19
3.2.1.	KEMIKA LIJE KORIŠTENE PRI RADU	20
3.2.2.	METODE	21
3.2.2.1.	PRIPRAVA EUTEKTIČKIH OTAPALA.....	22
3.2.2.2.	KONVENCIONALNA SINTEZA.....	22
3.2.2.3.	MIKROVALNA SINTEZA.....	23
3.2.2.4.	SINTEZA POD UTJECajem ULTRAZVUKA.....	23
4.	REZULTATI I RASPRAVA	
4.1.	REZULTATI KONVENCIONALNE SINTEZE.....	24
4.2.	REZULTATI MIKROVALNE SINTEZE.....	25
4.3.	REZULTATI ULTRAZVUČNE SINTEZE.....	28
4.4.	KARAKTERIZACIJA DOBIVENIH PRODUKATA	29
5.	ZAKLJUČAK.....	33
6.	LITERATURA	34
7.	PRILOZI.....	36

POPIS OZNAKA, KRATICA I SIMBOLA

°C	stupanj Celzijusa
ChCl	kolin-klorid
DES	eutektička otapala (<i>Deep Eutectic Solvents</i>)
DTGS	deuterirani triglicin sulfat (<i>Deuterated Triglycine Sulfate</i>)
EPA	Agencija za zaštitu okoliša (<i>Environmental Protection Agency</i>)
g	gram
g/mol	gram po molu
HBA	akceptor vodikovih veza (<i>Hydrogen Bond Acceptor</i>)
HBD	donor vodikovih veza (<i>Hydrogen Bond Donor</i>)
INA	izonikotinamid
kg	kilogram
MBC	minimalna baktericidna koncentracija (<i>Minimum Bactericidal Concentration</i>)
mg/L	milligram po litri
MIC	minimalna inhibitorna koncentracija (<i>Minimum Inhibitory Concentration</i>)
mL	mililitar
mS/cm	milisiemens po centimetru
MW	mikrovalovi
NAD	nikotinamid adenine dinukleotid
Pa s	paskalsekunda
ppm	dijelova na milijun (parts per million)
s	sekunda
TLC	tankoslojna kromatografija (<i>Thin Layer Chromatography</i>)
TMS	tetrametilsilan
t_t	temperatura tališta
t_v	temperatura vrelišta
W	vat

1. UVOD

Posljednjih nekoliko desetljeća svjesnost ljudi o potrebi zaštite i očuvanja okoliša sve više raste. Ubrzane promjene u okolišu te pojava globalnog zatopljenja rezultirali su u sve većoj usmjerenosti ljudi ka „zelenim“ i održivim tehnologijama. Doneseni su brojni novi zakoni i odredbe koji za cilj imaju zaštitu ekosustava, a znanstvena zajednica svoj je rad usmjerila na istraživanje novih metoda čija će primjena znatno reducirati uporabu štetnih kemikalija, ali i nastanak štetnih intermedijera i produkata.

Zelena kemija, kao nova grana kemije, problemu onečišćenja pristupa u potpunosti s ekološke strane slijedeći 12 principa koji zagovaraju dizajniranje učinkovitijih procesa u organskoj sintezi. Cilj zelene kemije je smanjiti nastanak štetnih nusproizvoda na način da se smanji uporaba opasnih kemikalija, a pospješi uporaba sigurnijih i ekološki bezopasnih otapala te katalizatora uz poboljšanje energetske održivosti. U skladu s tim, razvijene su brojne metode za sintezu organskih molekula, sinteze koje se odvijaju bez uporabe otapala (engl. *Solvent-free synthesis*), sinteza u vodenom mediju, ultrazvučna ili pak, mikrovalna sinteza.

Sinteza kvaternih soli heterocikličkih spojeva s dušikom poput izonikotinamida odabrana je zbog biološkog djelovanja sličnih spojeva prema mikroorganizmima, ali i zbog njihove moguće primjene kao baktericida i antidota.

Cilj rada je pokušati zamijeniti postojeća organska otapala (acetone, etanol, metanol) u kojima se klasično odvijaju reakcije kvaternizacije, manje toksičnim i nehlapljivim eutektičkim otapalima. Cilj je također utvrditi koja su eutektička otapala za reakciju kvaternizacije najbolji medij. Nadalje, pokušat će se utvrditi koja je od provedenih metoda sinteze kvaternih soli, klasična uz refluks otapala, ultrazvučna sinteza ili sinteza potpomognuta mikrovalnim zračenjem najučinkovitija te ispitati može li se pojedinom metodom skratiti reakcijsko vrijeme, smanjiti utrošak energije, postići bolji prinos produkata te smanjiti udio nusprodukata. U prvoj fazi rada pripremljena su kisela i bazična eutektička otapala. U drugoj fazi ovog rada izvedena je optimizacija reakcije kvaternizacije izonikotinamida kao nukleofila i 2-brom-4'-kloracetofenona kao elektrofila u 12 eutektičkih otapala, nakon čega su odabrana četiri otapala koja su se pokazala najučinkovitija te je u njima nadalje provedena kvaternizacija

izonikotinamida, 2-bromacetofenona te 2-brom-4'-metilacetofenona trima različitim metodama: konvencionalnom ili klasičnom metodom uz miješanje i zagrijavanje, metodom pod utjecajem mikrovalova te metodom pod utjecajem ultrazvuka. Treća faza obuhvaćala je izolaciju i pročišćavanje dobivenih produkata pomoću odgovarajućih otapala. Četvrta je faza obuhvaćala identifikaciju produkata spektroskopskim metodama: IR, ^1H -NMR i ^{13}C -NMR spektroskopiju, elementarnu analizu te određivanje njihove temperature tališta.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. ZELENA KEMIJA – DEFINICIJA I CILJEVI

Jedan od najvažnijih aspekata razvoja kemije danas je zasigurno razvoj *zelene kemije*. Prema definiciji Američke agencije za zaštitu okoliša (EPA-e) *zelena kemija* definira se kao kemija koja reducira ili u potpunosti eliminira uporabu, ali i stvaranje štetnih tvari. *Zelena kemija* je ona koja osmišljava kemijske produkte i procese koji su ekološki prihvatljivi. Svaka reakcija koja se može nazvati zelenom, u pravilu, treba imati tri osnovne komponente - otapalo, reagens/katalizator te utrošak energije i treba ispunjavati glavni cilj, a to je zaštita okoliša i ekonomska dobit. Ovi ciljevi se ostvaruju kroz nekoliko pravaca poput katalize, biokatalize, uporabe biomasa, alternativnih reakcijskih medija (voda, ionske kapljevine, superkritični fluidi), alternativnih reakcijskih uvjeta (aktivacija primjenom mikrovalnog ili ultrazvučnog zračenja) te novih, fotolitičkih reakcija (Jukić i sur., 2005).

Zelena kemija je, prema Stanleyu (2006), zasnovana na slijedećih 12 principa (**Tablica 1**):

Tablica 1 Dvanaest principa zelene kemije

1. Bolje je spriječiti nastajanje otpada, nego ga obrađivati i čistiti naknadno
2. Ulazne sirovine nužno je maksimalno uključiti u konačan proizvod
3. U potpunosti eliminirati uporabu i nastanak toksičnih tvari za ljude i okoliš
4. Produktima reducirati toksičnost, a zadržati djelotvornost za željenu svrhu
5. Uporabu pomoćnih kemijskih tvari (otapala i sl.) treba izbjeći ili iste zamijeniti neškodljivim tvarima
6. Minimizirati utrošak energije

7. Upotrebljavati obnovljive sirovine gdje god je to moguće
8. Izbjegavati nepotrebna proširenja procesa (npr. zaštićivanje funkcijskih skupina)
9. Primjenjivati katalitičke reagense koji su selektivni
10. Nastali produkti moraju imati mogućnost brze razgradnje u produkte neškodljive za okoliš
11. Nužno je primjenjivati i razvijati metode analize praćenja proizvodnog procesa s ciljem sprečavanja nastanka štetnih tvari
12. Smanjiti uporabu tvari koje mogu uzrokovati razne štetne posljedice (vatra, štetno isparavanje, eksplozija)

Problemi koje *zelena kemija* proučava i pokušava riješiti pripadaju području velikih globalnih problema poput klimatskih promjena, potrošnje energije i upravljanja vodnim resursima s ciljem održivosti. Upravo zbog toga je *zelena kemija* program koji se iz dana u dan razvija i donosi nove ideje i rješenja za esencijalne probleme današnjice (Jukić i sur., 2005).

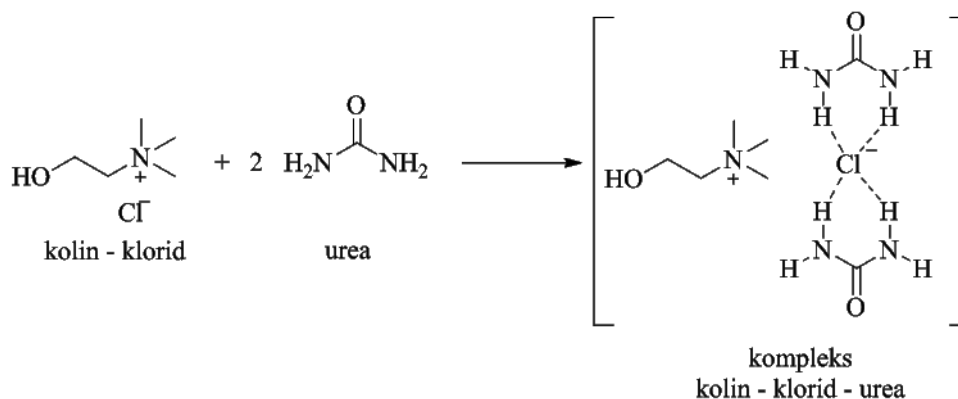
2.2. EUTEKTIČKA OTAPALA

Uobičajeno primjenjivana organska otapala ne zadovoljavaju zahtjeve *zelene kemije* zbog svoje toksičnosti pa su se kao ekološki prihvatljivija alternativa počela primjenjivati eutektička otapala. Eutektička otapala (*eng.* Deep Eutectic Solvents, *DESS*) su mješavina dvije ili više tvari koja ima niže talište od tališta svake pojedine čiste komponente ili bilo koje njihove smjese,

što je rezultat nastanka nekovalentnih intermolekularnih interakcija, primjerice vodikove veze ili van der Waalsovih interakcija (Zhang i sur., 2012).

Eutektička otapala kao nova klasa otapala često se u literaturi nazivaju analozima ionskih tekućina zbog brojnih sličnih karakteristika, ali je riječ o dva različita tipa otapala. Eutektici su smjese nastale reakcijom Lewisovih ili Brønstedovih kiselina i baza koje mogu sadržavati različite anione i katione; dok se smjese ionskih tekućina formiraju od samo jedne izolirane vrste aniona ili kationa. Stoga se eutektici definiraju kao nova vrsta ionskih tekućina, sličnih fizikalnih, ali različitih kemijskih svojstava koja uvjetuju njihovo područje primjene (Smith i sur., 2014).

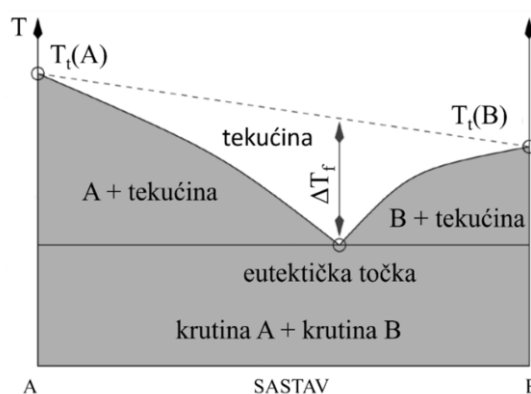
Eutektička otapala pripremaju se miješanjem akceptora vodikovih veza (kvaterne amonijeve ili metalne soli) i donora vodikovih veza (amidi, karboksilne kiseline, alkoholi, šećeri) u različitim omjerima (**Slika 1**).



Slika 1 Reakcija nastajanja eutektičkog otapala ChCl : urea DES (1:2) (Abbott i sur., 2003)

Miješanjem akceptora i donora vodikovih veza dolazi do narušavanja kristalne strukture kvaterne amonijeve soli (*HBA*), javlja se delokalizirani naboj i stvara se vodikova veza (Zhang i sur., 2012). Uslijed stvaranja vodikove veze nastaju eutektičke smjese čija je temperatura tališta niža od temperature tališta svake pojedine komponente u smjesi (**Slika 2**) i pri

temperaturi nižoj od 100 °C su u tekućem agregatnom stanju. Najniža temperatura na kojoj eutektik može postojati u tekućoj fazi naziva se eutektička točka.



Slika 2 Fazni dijagram binarne smjese (Smith i sur., 2012)

Opća formula eutektičkih otapala je $Cat+X-zY$, gdje je *Cat* bilo koji amonijev, fosfonijev ili sulfonijev kation, *X* predstavlja Lewisovu bazu, tj. halogenid, *Y* je Brønstedova kiselina dok je *z* broj molekula *Y* koje reagiraju s anionom. S obzirom na agens s kojim tvore kompleks, eutektici se dijele na četiri tipa (**Tablica 2**).

Tablica 2 Vrste eutektičkih otapala (Kudlak i sur., 2015)

Eutektičko otapalo	Sastav	Primjer
Tip I	metalna sol + organska sol	$ZnCl_2$ + kolin-klorid
Tip II	hidrat metalne soli + organska sol	$CoCl_2 \cdot 6H_2O$ + kolin-klorid
Tip III	organska sol + donor vodikove veze	kolin-klorid + urea
Tip VI	metalna sol + donor vodikove veze	$ZnCl_2$ + urea

Tip I predstavlja smjesu metalne soli i kvaterne amonijeve soli koja je vrlo slična smjesi halogenidnih/imidazolijskih soli. Broj vrsta nehidriranih metalnih halogenida koji imaju željenu nisku temperaturu tališta i ulaze u sastav eutektičkih otapala ovog tipa je vrlo mali što znatno ograničava njihovu proizvodnju, ali i uporabu. Za razliku od prvog tipa, eutektici *tipa II* sastoje se od hidrata metalnih soli (hidrirani metalni halogenidi) i organske soli (kolin-klorid). S obzirom na nisku cijenu hidratiranih metalnih soli te njihovu neosjetljivost na zrak i vlagu, uporaba eutektičkih otapala ovog tipa predstavlja dobar temelj za održive industrijske procese (Smith i sur., 2014).

Treći tip eutektičkih otapala tvore kolin-klorid i donor vodikovih veza (*HBD*). Zbog svoje sposobnosti otapanja velikog broja prijelaznih metalnih vrsta (kloridi, oksidi) ovaj tip *DES*-a je najčešće istraživani (Abbott i sur., 2003). Eutektici *tipa III* relativno su nereaktivni s vodom i biorazgradivi, a mogućnost pripreme raznovrsnih otapala, s obzirom na velik broj potencijalnih *HBD*-a, čini ih vrlo učinkovitim u svojoj namjeni. Eutektici *tipa IV* sastoje se od metalne soli, tj. hidrata i donora vodikovih veza (urea, acetamid).

Baza većine eutektika je kolin, kvaterni amonijev kation, koji je netoksičan i jeftin u usporedbi s imidazolijem (Smith i sur., 2014).

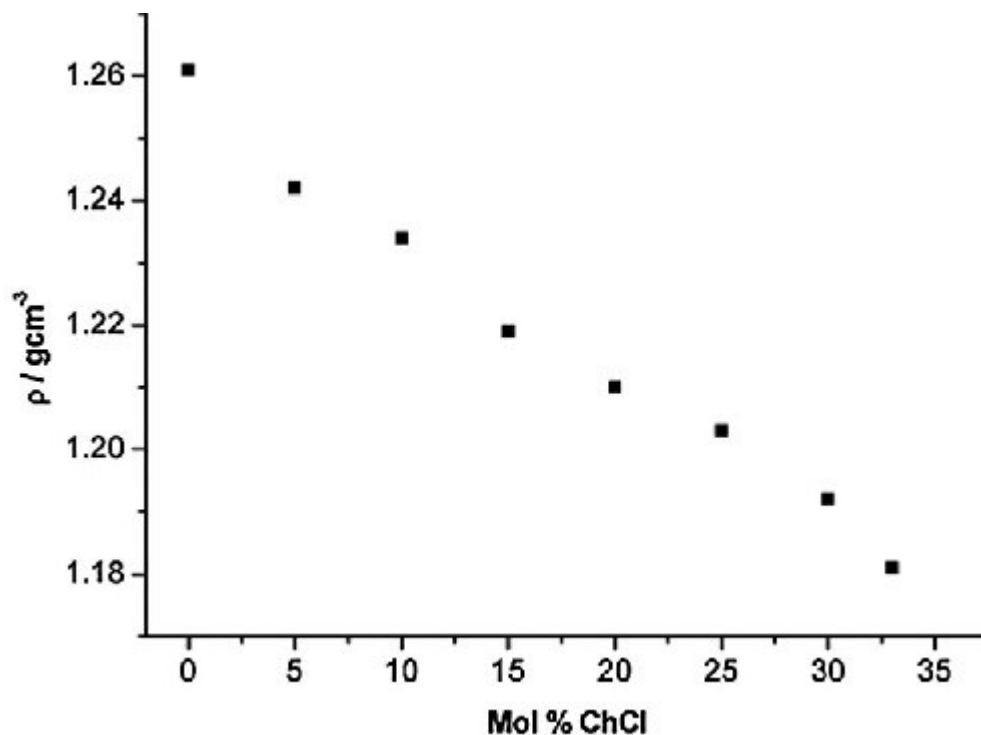
Eutektici su biorazgradivi i netoksični, a pomoću njih, reakcije sinteze moguće je provoditi na sobnoj temperaturi i pri atmosferskom tlaku (Molnar i sur., 2017.). Velika prednost eutektičkih otapala je u tome što promjenom jedne od komponenti možemo dobiti otapala različitih svojstava stoga se često nazivaju i dizajnirana otapala i upravo to omogućava dobivanje otapala željenih fizikalno-kemijskih karakteristika.

Iako se eutektička otapala smatraju „zelenijom“ i ekološki prihvatljivijom alternativom od uobičajenih organskih otapala njihova toksičnost još uvijek nije potpuno istražena. Eutektici imaju nizak tlak para pa nema emisije u atmosferu, ali njihovim miješanjem s vodom dolazi do otpuštanja dijela u vodeni medij stoga je potrebno pronaći i osmisliti način za njihovo recikliranje i uklanjanje iz vode (Smith i sur., 2014).

2.2.1. SVOJSTVA EUTEKTIČKIH OTAPALA

Kombinacijom različitih akceptora i donora vodikovih veza moguće je dobiti puno vrsta eutektičkih otapala koja se razlikuju u svojstvima (temperatura tališta, viskoznost, gustoća, provodljivost). Mjalli i sur. (2011) proveli su istraživanje u kojem su pratili ovisnost svojstava različitih eutektika o promjeni temperature. Kod eutektičkog otapala kolin-klorid : urea (1 : 2) viskoznost je iznosila 0,632 Pa s, provodljivost 0,75 mS/cm, a gustoća eutektika je bila 1,24 g/cm³, dok je eutektičko otapalo kolin-klorid : glicerol (1 : 2) imalo puno nižu viskoznost (0,376 Pa s), ali veću provodljivost (1,05 mS/cm). Iz promjene promatranih svojstava (gustoća, viskoznost, temperatura tališta, pH) zaključili su da vrsta soli, donora vodikovih veza (*HBD*) i njihov molarni omjer značajno utječu na ispitivana svojstva (Smith i sur., 2014).

Gustoća eutektičkih otapala kreće se u rasponu od 1,1 g/cm³ do 2,4 g/cm³ i nešto je veća od gustoće vode. Ona ovisi o temperaturi s čijim se povećanjem smanjuje, a na njeno smanjenje utječe i porast količine soli i donora vodikovih veza (*HBD*) u otapalu (**Slika 3**). Eutektička otapala imaju relativno visoku viskoznost što se može pripisati jakim vodikovim vezama između komponenata otapala, a što rezultira manjom pokretljivošću molekula unutar strukture. Na viskoznost utječu kemijska priroda komponenata otapala, molarni omjer organske soli i donora vodikovih veza (*HBD*), temperatura te sadržaj vode (Zhang i sur, 2012).

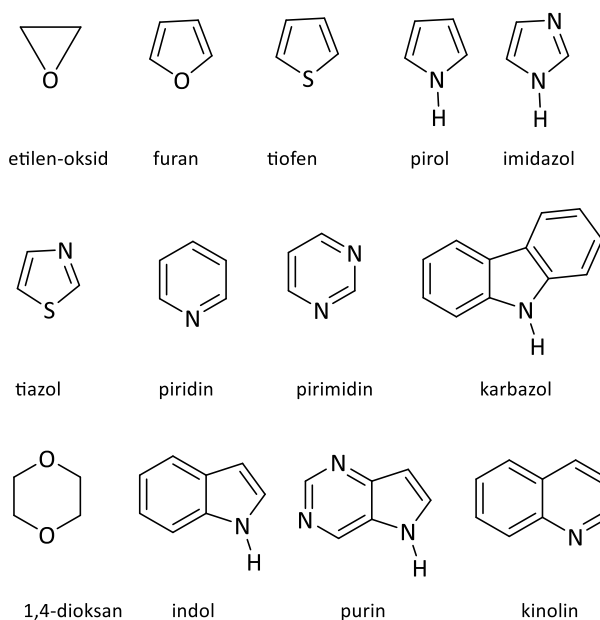


Slika 3 Ovisnost gustoće eutektičkog otapala ChCl : glicerol o molarnom udjelu ChCl (Zhang i sur, 2012)

Eutektička otapala imaju nižu temperaturu tališta u odnosu na svaku pojedinu komponentu u smjesi što možemo objasniti na primjeru eutektičnog otapala na bazi kolin-klorida (*ChCl*) i uree (*HBD*) u molarnom omjeru 1 : 2. Dokazano je kako je temperatura tališta dobivenog eutektičkog otapala (12°C) puno niža od temperature tališta kolin-klorida (303°C) i uree (133°C), a što se pripisuje stvaranju veza između halogenidnog aniona i donora vodikove veze (*HBD*). Pripravljena eutektička otapala imaju temperaturu tališta nižu od 150 °C, a posebno su zanimljiva ona kod kojih je temperatura tališta ispod 50 °C, s obzirom da su izrazito jeftina i sigurna za primjenu u brojnim područjima (Zhang i sur., 2012).

2.3. HETEROCIKLIČKI SPOJEVI

Organski ciklički spojevi koji u prstenu osim ugljikova atoma sadrže i atome drugih elemenata nazivaju se heterocikličkim spojevima. Najčešći heteroatomi su kisik, dušik te sumpor. Heterociklički spojevi se razvrstavaju prema broju atoma u prstenu, vrsti i broju heteroatoma te sličnosti s aromatskim spojevima. Osobito su značajni spojevi s maksimalno nezasićenim peteročlanim (npr. furan, tiofen, pirol) i šesteročlanim prstenom (piridin) (**Slika 4**).

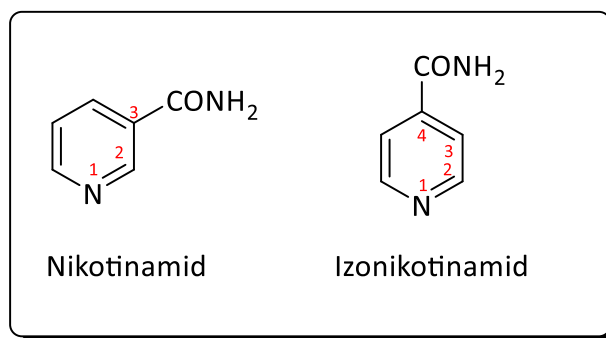


Slika 4 Najznačajniji predstavnici heterocikličkih aromatskih spojeva (Schofield K., 1967)

Piridinski prsten osnova je brojnih važnih prirodnih spojeva poput vitamina B6 (piridoksin) i nikotinamid adenin dinukleotida (NAD). Heterociklički prsten piridina čini atom dušika i pet ugljikovih atoma. Budući da se ponaša kao baza s kiselinama daje soli, a s alkilirajućim reagensima daje kvaterne amonijeve soli. Piridin podliježe reakcijama elektrofilne i nukleofilne

aromatske supstitucije, a iz njega se sintetiziraju tri izomerne piridin-karboksilne kiseline: pikolinska, nikotinska te izonikotinska (Schofield K., 1967).

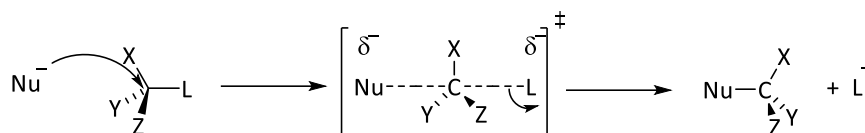
Nikotinamid zajedno s nikotinskom kiselinom predstavlja dva osnovna oblika vitamina B3 (niacin). Niacin se procesima biosinteze prevodi u nikotinamid adenin dinukleotid (NAD^+), koji primanjem elektrona prelazi u reducirani dinukleotid, NADH. Derivati nikotinamida privlače sve veću pozornost zbog svog antimikrobnog, insekticidnog, fungicidnog i herbicidnog djelovanja, citotoksičnih svojstava te antiangiogeneze (Siber i sur., 2019). Zahvaljujući utvrđenim svojstvima nikotinamida (NA) i brojnim istraživanjima daljnja ispitivanja sve se češće provode na izonikotinamidu koji se od NAD razlikuje u položaju karboksamidne skupine (**Slika 5**) (Pine S., 1994).



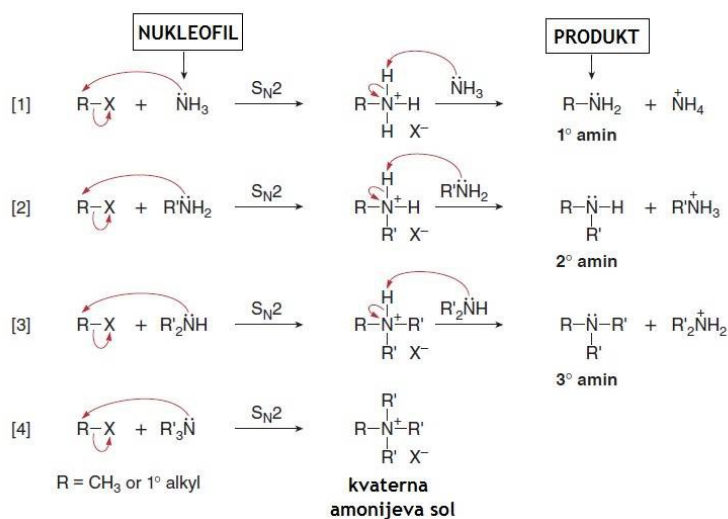
Slika 5 Razlika u položaju karboksamidne skupine nikotinamida i izonikotinamida

2.4. REAKCIJE KVATERNIZACIJE

Reakcije kvaternizacije su reakcije između amonijaka, primarnih, sekundarnih ili tercijarnih amina s primarnim alkil-halogenidima, a odvijaju se $\text{S}_{\text{N}}2$ mehanizmom (**Slika 6**) pri čemu nastaju kvaterne amonijeve soli.

**Slika 6** S_N2 mehanizam

S_N2 mehanizam je nukleofilna supstitucija drugog reda u kojoj dolazi do istovremenog nukleofilnog napada dušika na ugljikov atom na kojem se nalazi vezan halogen, uz istovremeni odlazak halogena. Primarni amin koji nastaje u reakciji s alkil-halogenidom ima nesparene elektrone na dušiku (nukleofil) te stupa u daljnju reakciju s alkil-halogenidom pri čemu nastaju sekundarni amini. Nastali sekundarni amini dalje reagiraju s alkil-halogenidom stvarajući tercijarne amine koji u reakciji s alkil-halogenidom stvaraju kvaterner amonijeve soli (**Slika 7**) (Gorzinsky Smith J., 2011). Upravo se na ovim reakcijama koje slijede S_N2 mehanizam zasniva *klasična (konvencionalna) metoda organske sinteze*.

**Slika 7** Mehanizam priprave kvaternih amonijevih soli (Gorzinsky Smith, 2011)

Glavni nedostaci klasične metode sinteze su dugotrajnost i vrlo niski prinosi (Siber i sur., 2019). Upravo iz tih razloga istraživanja su usmjerena na primjenu drugih metoda koje će

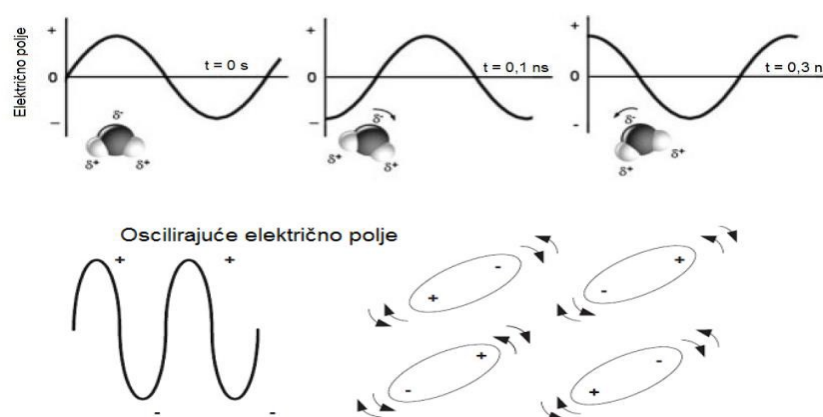
znatno skratiti vrijeme trajanja procesa te povećati prinose. Kao dobra alternativa klasičnoj metodi pokazale su se ultrazvučna i mikrovalna sinteza.

Ultrazvučno zračenje se znatno razlikuje od uobičajenih izvora energije (toplina, svjetlo, ionizirajuće zračenje) s obzirom na trajanje i tlak. Prilikom privlačenja polariziranih molekula dolazi do pojačanih mehaničkih vibracija te se ultrazvučni val emitira kroz medij. Prolaskom ultrazvučnog vala kroz medij nastaju longitudinalni valovi što za posljedicu ima pojavu izmjeničnih ciklusa kontrakcije i ekspanzije pri čemu se stvaraju milijuni mikroskopskih mjehurića. Uslijed oscilacija tlaka u mediju nastali mjehurići osciliraju i u fazi ekspanzije naglo narastu (Drmić i sur., 2010). Kada mjehurići više ne mogu apsorbirati energiju, ulaskom male količine plina formira se velik broj udubljenja na svakom mjehuriću (tijekom ciklusa ekspanzije) te oni uslijed razlike tlakova implodiraju uzrokujući pojavu intenzivnog lokalnog zagrijavanja i visokog tlaka (Puri i sur., 2013). Uslijed tog naglog porasta temperature i tlaka dolazi do značajnog skraćivanja vremena trajanja procesa što je jedna od glavnih prednosti, uz jednostavnost i cjenovnu prihvatljivost, primjene ultrazvučne sinteze.

Mikrovalna sinteza zasniva se na primjeni mikrovalnog ili dielektričnog zagrijavanja pri kojem tvar (krutina i tekućina) apsorbira elektromagnetsku energiju i pretvara je u toplinu. MW-fotoni nemaju dovoljnu energiju za kidanje veza pri kemijskoj reakciji, pa je za učinak zagrijavanja zaslužna interakcija izmjeničnog električnog polja visokofrekventnog MW zračenja i materije. Djelovanje izmjeničnog električnog polja potiče rotaciju polarnih molekula, koje uslijed smanjene brzine kretanja ne mogu slijediti brze promjene smjera električnog polja. To kašnjenje za izmjeničnim električnim poljem dovodi do rasapa elektromagnetske energije u toplinu što se opisuje dvama osnovnim modelima, a to su rotacija dipola i ionska vodljivost.

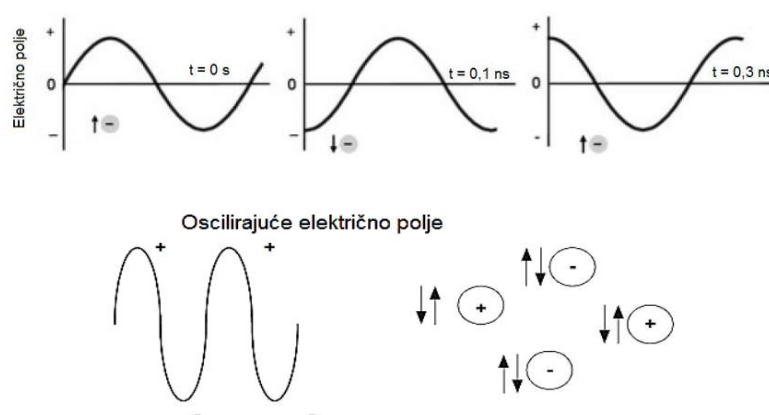
Rotacija dipola (Slika 8) ili *dipolarna polarizacija* je interakcija tijekom koje polarne molekule uslijed različite elektronegativnosti pojedinih atoma rezultiraju stalnim dipolom i rotacijom nastoje slijediti smjer izmjeničnog električnog polja. Jakost pri tome ovisi o polarnosti molekula te njihovoj sposobnosti da slijede brze izmjene smjera (Eckert-Maksić i sur., 2005). Prestrojavanje je brzo kod slobodnih molekula, a ograničenje se bazira na sposobnosti dipola da reagira na električno polje (npr. pod niskim frekvencijama zračenja dipol

može reagirati usklađivanjem sebe u fazi s električnim poljem). Mikrovalna frekvencija je dovoljno niska pa stoga dipoli imaju dovoljno vremena odgovoriti na izmjenična polja i rotiraju se, ali je istovremeno i dovoljno visoka da rotacija precizno ne slijedi polje. Kada se dipol preorijentira i uskladi se s poljem, polje se mijenja, a fazna razlika uzrokuje da se energija gubi iz dipola u slučajnim sudarima dovodeći do dielektričnog zagrijavanja (Hranjec, 2017).



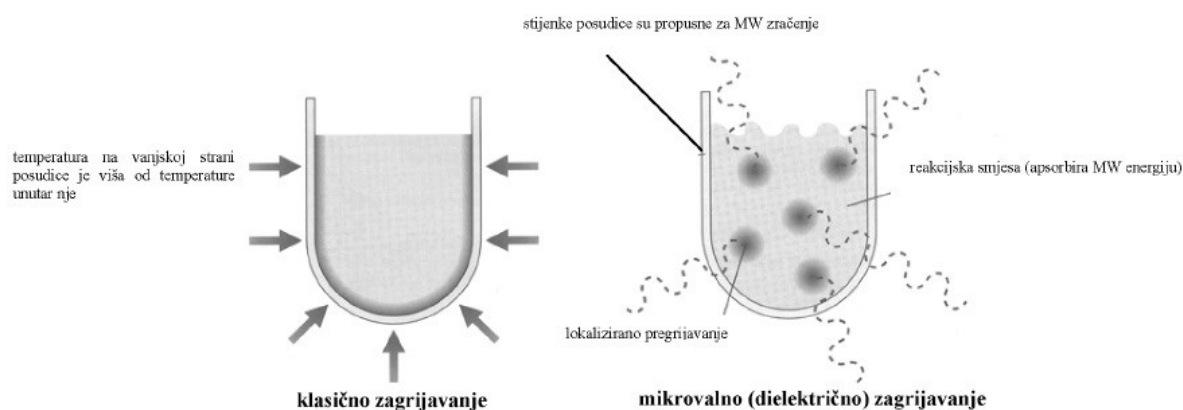
Slika 8 Mikrovalno zagrijavanje mehanizmima rotacije dipola (Hranjec, 2017)

Ionska vodljivost ili kondukcijski mehanizam (Slika 9) javlja se ukoliko su prisutni slobodni ioni ili ionske vrste u mediju na koji se djeluje mikrovalnim zračenjem. Djelovanjem mikrovalova dolazi do kretanja slobodnih iona ili ionskih vrsta u mediju pod utjecajem izmjeničnog električnog polja. Oscilirajuće električno polje stvara oscilacije elektrona ili iona u vodiču, što rezultira stvaranjem električne struje. Generirana struja suočava se s unutarnjim otporom, koji zagrijava vodič. Elektroni ili ioni premještaju se kroz materijal pod utjecajem električnog polja što rezultira polarizacijom, kada je ozračeni uzorak vodič. Stvorena inducirana struja izaziva zagrijavanje u uzorku uslijed električnog otpora (Hranjec, 2017).



Slika 9 Mikrovalno zagrijavanje kondukcijskim mehanizmom (Hranjec, 2017)

Klasična sinteza provodi se zagrijavanjem reakcijske posudice s vanjskim izvorom topline pri čemu se toplinska energija prenosi s izvora na stjenke posude, zatim na uljnu kupelj i tek potom na otapalo i reaktante uslijed čega je zagrijavanje sporije. Kod mikrovalnog zagrijavanja reakcijska smjesa se izravno zagrijava uslijed apsorpcije energije, pri čemu ne dolazi do zagrijavanja aparature. Na taj način postižu se značajne uštede energije te se povećava učinkovitost procesa budući da se reakcije odvijaju brže, blaži su uvjeti i provođenje se može kontrolirati (isključivanjem izvora mikrovalnog zračenja prestaje prijenos topline u reakcijsku smjesu) (**Slika 10**) (Hranjec, 2017).



Slika 10 Shematski prikaz klasičnog i mikrovalnog zagrijavanja (Eckert-Maksić i sur., 2005)

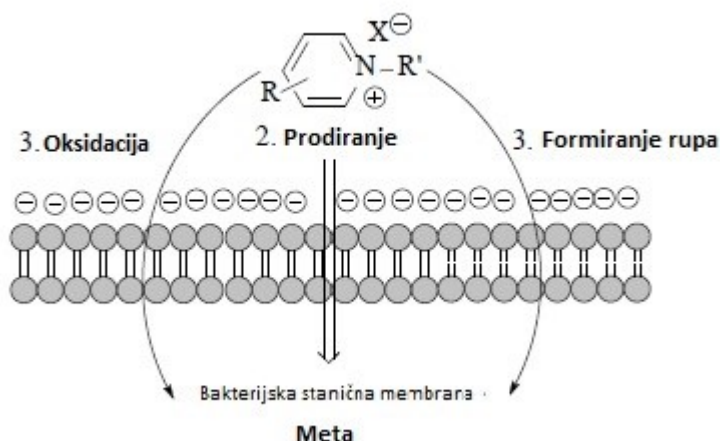
2.5. PRIMJENA KVATERNIH SOLI

Kvaterne amonijeve soli koriste se kao antiseptici i dezinficijensi, a poznata je i njihova upotreba kao antidota. Neke piridinijeve soli s različitim duljinama lanaca, posjeduju antibakterijsku aktivnost prema Gram-pozitivnim i Gram-negativnim bakterijama (Jukić i sur., 2005). Bušić i sur. (2017) proučavali su antibakterijska svojstva četiri sintetizirane kvarterne piridinijeve soli te minimalnu inhibitornu (*MIC*) i minimalnu baktericidnu koncentraciju (*MBC*) za dvije Gram-pozitivne i dvije Gram-negativne bakterije. Sintetizirani spojevi bili su najaktivniji protiv bakterije *Pseudomonas syringae* (gram-negativnih) pri čemu je najniža minimalna baktericidna koncentracija (*MBC*) iznosila je 625 mg/L, a istu vrijednost imala je i zabilježena najniža inhibicijska koncentracija (*MIC*).

Pretpostavlja se da se razorni učinak kvaternih amonijevih soli na mikroorganizme temelji na apsorpciji te amfifilne molekule na vanjsku staničnu membranu. "Glave" kationskih molekula kao pozitivno nabijene stupaju u interakciju s negativno nabijenom staničnom membranom te je ometaju zbog elektrostatskih i hidrofobnih interakcija. Kvarterni spojevi nepovratno se vežu za fosfolipide i proteine membrane, čime se smanjuje njena propusnost. Antibakterijski mehanizam odvija se u tri koraka (**Slika 11**):

- 1) stvaranje rupa uzrokovano alkilnim lancem;
- 2) prodiranje cijelih molekula u bakterijske stanice;
- 3) nakupljanje piridinijevih spojeva i prijenos oksidativnog klora (ili drugih halogenidnih aniona) na biološke receptore koji pojačavaju antibakterijsko djelovanje. Hidrofobna regija prodire u hidrofobni dvosloj što uzrokuje promijenu

propusnosti membrane, a to rezultira otpuštanjem iona K (K^+) i citoplazmatskih komponenti te na kraju odumiranjem stanice (Bušić i sur., 2017).



Slika 11 Model antimikrobnog djelovanja

Nadalje, kvaterne amonijeve soli koriste se i kao tenzidi, omekšivači tkanina kod kojih su najčešće zastupljene kloridne soli i antistatički agensi. Neke kvaterne soli heterocikličkih amina poput nikotinamida imaju antikancerogeno djelovanje jer inhibiraju djelovanje angiogenih signala. Angiogeni signali predstavljaju kemijske tvari koje „tjeraju“ okolne krvne žile da puštaju svoje izdanke prema tumorskim stanicama, kada im je prehrana iz okoline nedostatna. Na taj način tumoru je osigurana doprema kisika i hranjivih tvari, pa se njegov rast i razvoj nastavlja, uz mogućnost metastaziranja (Choi i sur., 2013).

Siber i sur. (2019) ispitali su i antifungalno djelovanje derivata nikotinamida protiv *Fusarium oxysporum*, *Fusarium culmorum*, *Macrophomina phaseolina* te *Sclerotinia sclerotiorum* u koncentracijama od 10 g/mL i 100 g/mL. Od svih novih sintetiziranih spojeva, šest je pokazalo snažnu inhibiciju rasta micelija u koncentraciji od 10 g/mL, dok su u slučaju gljive *Sclerotinia sclerotiorum* svi spojevi pokazali veliku inhibitornu aktivnost (100 g/mL). Na temelju dobivenih rezultata zaključeno je kako derivati nikotinamida predstavljaju ekološki-

prihvatljiviju alternativu od konvencionalnih fungicida budući da se radi o derivatima vitamina B3.

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. ZADATAK

Zadatak je bio izvesti reakcije kvaternizacije izonikotinamida kao nukleofila i supstituiranih 2-bromacetofenona kao elektrofila u nekoliko različitih eutektička otapala konvencionalnom, ultrazvučnom te mikrovalnom metodom s ciljem utvrđivanja najučinkovitijeg otapala i metode provedbe.

3.2. MATERIJALI I METODE

Svi reagensi i kemikalije korišteni u sintezi bili su analitičke čistoće.

Mikrovalne sinteze provedene su u modificiranoj kućnoj mikrovalnoj pećnici marke Electrolux EMS 2105s.

Tankoslojna kromatografija (TLC) rađena je na komercijalno dostupnim pločicama silikagela DC Alufolien Kieselgel 60 F254, a izolirane komponente detektirane su pomoću UV lampe pri 254 i 366 nm. Kromatogrami su razvijani u sustavu otapala: kloroform : metanol (6:2).

Spektri nuklearne magnetske rezonancije (NMR) snimani su na instrumentu spektrometar Bruker AV600 u DMSO-d₆ na 298 K u Centru za NMR Instituta „Ruđer Bošković“ radeći pri 600,135 MHz za ¹H i pri 150,903 MHz za ¹³C. Kemijski pomaci ¹H i ¹³C izraženi su u ppm prema tetrametilsilanu (TMS).

Infracrveni spektri snimljeni su na uređaju Cary 630 FTIR, Agilent Technologies. Za detekciju je korišten DTGS (eng. *Deuterated triglycine sulfate*) detektor.

Temperature tališta određene su na elektrotermalnom digitalnom uređaju SMP3 (Mettler Toledo, Hrvatska).

3.2.1. KEMIKA LIJE KORIŠTENE PRI RADU:

Izonikotinamid; $C_6H_6N_2O$; 122,12 g/mol; $t_f=155-157\text{ }^{\circ}\text{C}$; Sigma-Aldrich, 100 g

Kolin-klorid; $C_5H_{14}ClNO$; 139,63 g/mol; $t_f=298-304\text{ }^{\circ}\text{C}$, Acros Organics, 1 kg

2-Brom-4'-kloracetofenon; ClC_8H_6BrO ; 233,49 g/mol; $t_f=95-99\text{ }^{\circ}\text{C}$; Sigma-Aldrich; 100 g

2-Bromacetofenon; C_8H_7BrO ; 199,05 g/mol; $t_f=46-51\text{ }^{\circ}\text{C}$; Acros Organics; 100 g

2-Brom-4'-metilacetofenon; C_9H_9BrO ; 213,07 g/mol; $t_f=52-53\text{ }^{\circ}\text{C}$; Acros Organics; 25 g

Urea; CH_4N_2O ; 60,06 g/mol; $t_f=133\text{ }^{\circ}\text{C}$, Gram Mol, 250 g

N-metilurea; $C_2H_6N_2O$; 74,08 g/mol; $t_f=98-102\text{ }^{\circ}\text{C}$, Acros Organics, 100 g;

Tiourea; CH_4N_2S ; 76,12 g/mol; $t_f=171-175\text{ }^{\circ}\text{C}$; Acros Organics; 250 g

Glicerol; $C_3H_8O_3$; 92,09 g/mol; $t_f=17,8\text{ }^{\circ}\text{C}$, Kemika, 1000 mL

Acetamid; C_2H_5NO ; 59,07 g/mol; $t_f=79-81\text{ }^{\circ}\text{C}$; Acros Organics, 100 g

Jabučna kiselina; $HO_2CCH_2CH(OH)CO_2H$; 134,09 g/mol; $t_f=131-133\text{ }^{\circ}\text{C}$, Sigma-Aldrich, 250 g

Limunska kiselina; $C_6H_8O_7 \times H_2O$; 210,14 g/mol; $t_f=153\text{ }^{\circ}\text{C}$; Gram Mol, 500 g

Vinska kiselina; $C_4H_6O_6$; 150,08 g/mol; $t_f=168\text{ }^{\circ}\text{C}$, Fisher Scientific; 100 g

Malonska kiselina; $C_3H_4O_4$; 104,06 g/mol; $t_f=133-137\text{ }^{\circ}\text{C}$; Fisher Scientific, 100 g

Oksalna kiselina; $C_2H_2O_4 \times 2\text{ }H_2O$; 126 g/mol; $t_f=98-101\text{ }^{\circ}\text{C}$, Alkaloid-Skopje; 250 g

Mliječna kiselina; $C_3H_6O_3$; 90,08 g/mol; $t_v=125\text{ }^{\circ}\text{C}$; Acros Organics, 500 mL

Levulinska kiselina; $C_5H_8O_3$; 116,12 g/mol; $t_f=33-35\text{ }^{\circ}\text{C}$, Acros Organics, 100 g

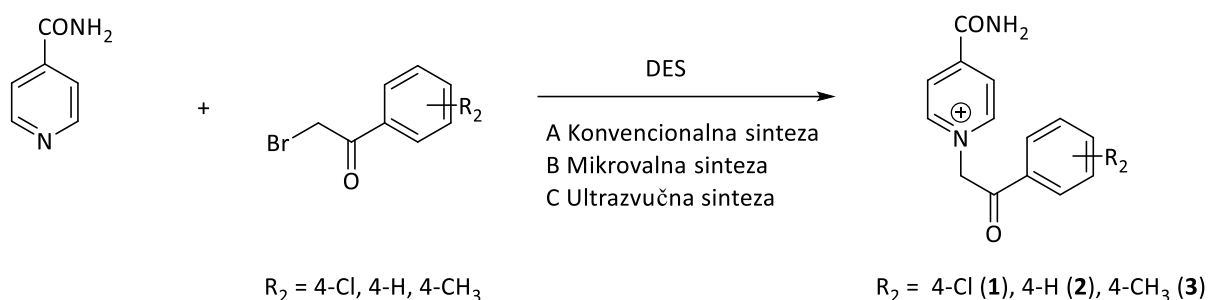
Etanol; 96%-tni; C_2H_6O ; 46,07 g/mol; $t_v=78\text{ }^{\circ}\text{C}$; Gram Mol, 1000 mL

Kloroform; $CHCl_3$; 119,38 g/mol; $t_v=61,2\text{ }^{\circ}\text{C}$; Gram Mol, 1000 mL

Metanol; CH_4O ; 32,04 g/mol; $t_v=64,5\text{ }^{\circ}\text{C}$; Gram Mol, 1000 mL

3.2.2. METODE

Na početku je provedena optimizacija reakcije kvaternizacije. Kao modelna reakcija za optimizaciju reakcije kvaternizacije provedena je reakcija između izonikotinamida (INA) i 2-brom-4'-kloracetofenona. Reakcija optimizacije provedena je u 12 eutektičkih otapala, a nakon reakcije optimizacije izvedene su reakcije INA s 2-bromacetofenonom i 2-brom-4'-metilacetofenonom u četiri otapala koja su dala najveće prinose u fazi optimiranja (**Slika 12**). Reakcije kvaternizacije INA i 2-bromacetofenona te INA i 2-brom-4'-metilacetofenona provedene su u četiri otapala primjenom konvencionalne, mikrovalne i ultrazvučne metode.



Slika 12 Sintaza derivata izonikotinamida u eutektičkim otapalima

Prije provođenja reakcija pripravljena su sva eutektička otapala na bazi kolin-klorida (ChCl) kao akceptora vodikovih veza (*HBA*). Donori vodikovih veza (*HBD*) te molarni omjeri HBA i HBD navedeni su u **Tablicama 3, 5 i 6**.

3.2.2.1. PRIPRAVA EUTEKTIČKIH OTAPALA

Priprava eutektičkih otapala provedena je miješanjem i zagrijavanjem kolin-klorida i različitih *HBD*-a na magnetskoj mješalici odgovarajuće vrijeme (oko 3 h) ovisno o donoru vodikovih veza te pri temperaturi 80 °C. Tijekom miješanja i zagrijavanja nastale su stabilne homogene tekućine, koje su ohlađene, te kao takve, korištene kao otapala u dolje navedenim reakcijama kvaternizacije.

Priprava eutektičkog otapala ChCl : vinska kiselina izvršena je na višoj temperaturi (173 °C) budući da se vinska kiselina tali pri temperaturi od 171 – 174 °C.

3.2.2.2. KONVENCIONALNA SINTEZA

Ekvimolarna smjesa od 1,19 mmol izonikotinamida i 2-brom-4'-kloracetofenona otopljena je u eutektičkim otapalima navedenim u **Tablici 3** (odnos molova reaktanta i ChCl -a = 1 : 10), dok su preostala dva supstituirana 2-bromacetofenona (4-H, 4- CH_3) otopljena u četiri eutektička otapala koja su dala najveće prinose prilikom optimizacije reakcije kvaternizacije. Reakcijska smjesa ostavljena je na magnetskoj mješalici 3 h na 80 °C, a potom je u nju dodan 96%-tni etanol prilikom čega se istaložio dobiveni produkt. Produkt je odfiltriran te prekrizaliziran iz odgovarajućeg otapala.

Tijek reakcije praćen je tankoslojnom kromatografijom u sustavu otapala kloroform : metanol = 6 : 2.

3.2.2.3. MIKROVALNA SINTEZA

Reakcije su također provedene i uz pomoć mikrovalova. Ekvimolarna smjesa od 1,19 mmol izonikotinamida i 2-brom-4'-kloracetofenona otopljena je u 12 eutektičkih otapala (odnos molova reaktanta i $\text{CHCl}_3 = 1 : 10$), a preostala dva supstituirana 2-bromacetofenona (4-H, 4- CH_3) otopljena su u četiri eutektička otapala koja su dala najveće prinose prilikom optimizacije reakcije kvaternizacije. Reakcijska je smjesa podvrgnuta mikrovalnom zračenju određeno vrijeme pri snazi od 300 W, a potom je u nju dodan 96 %-tni etanol prilikom čega se istaložio dobiveni produkt. Produkt je odfiltriran te prekrizaliziran iz odgovarajućeg otapala.

Tijek reakcije praćen je tankoslojnom kromatografijom u sustavu otapala kloroform : metanol = 6 : 2.

3.2.2.4. SINTEZA POD UTJECajem ULTRAZVUKA

Provedene su i reakcije sinteze derivata izonikotinamida pomoću ultrazvuka. Kvaternizacija u ultrazvučnoj kupelji je provedena na temperaturi od 80 °C pri kojoj je produkt vidljiv u svim ispitanim eutektičkim otapalima.

Ekvimolarna smjesa od 1,19 mmol nikotinamida i 2-brom-4'-kloracetofenona otopljena je u 12 eutektičkih otapala (odnos molova reaktanta i $\text{CHCl}_3 = 1 : 10$), a preostala dva supstituirana 2-bromacetofenona (4-H, 4- CH_3) otopljena su u četiri otapala koja su dala najveće prinose prilikom optimizacije reakcije kvaternizacije (**Tablica 7**). Reakcijska je smjesa ostavljena u ultrazvučnoj kupelji 3 sata na 80 °C. Nakon sinteze u reakcijsku je smjesu dodan 96 %-tni etanol prilikom čega se istaložio dobiveni produkt. Produkt je odfiltriran te prekrizaliziran iz odgovarajućeg otapala.

Tijek reakcije praćen je tankoslojnom kromatografijom u sustavu otapala kloroform : metanol = 6 : 2.

4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. REZULTATI KONVENCIONALNE SINTEZE

Iz dobivenih rezultata provedenih reakcija kvaternizacije (**Tablica 3**) zaključeno je da su najbolji uvjeti primjene konvencionalne metode za reakcije kvaternizacije izonikotinamida i supstituiranih 2-bromacetofenona (4-Cl, 4-H, 4-CH₃) uz zagrijavanje pri 80 °C u eutektičkom otapalu kolin-klorid : glicerol (1 : 2), pri čemu je iskorištenje u reakciji kvaternizacije INA s 2-brom-4'-kloracetofenonom iznosilo 8,43 %, s 2-bromacetofenonom iznosilo 46,99 %, dok je sa 2-brom-4'-metilacetofenonom produkt identificiran tankoslojnom kromatografijom, ali ga nije bilo moguće izolirati.

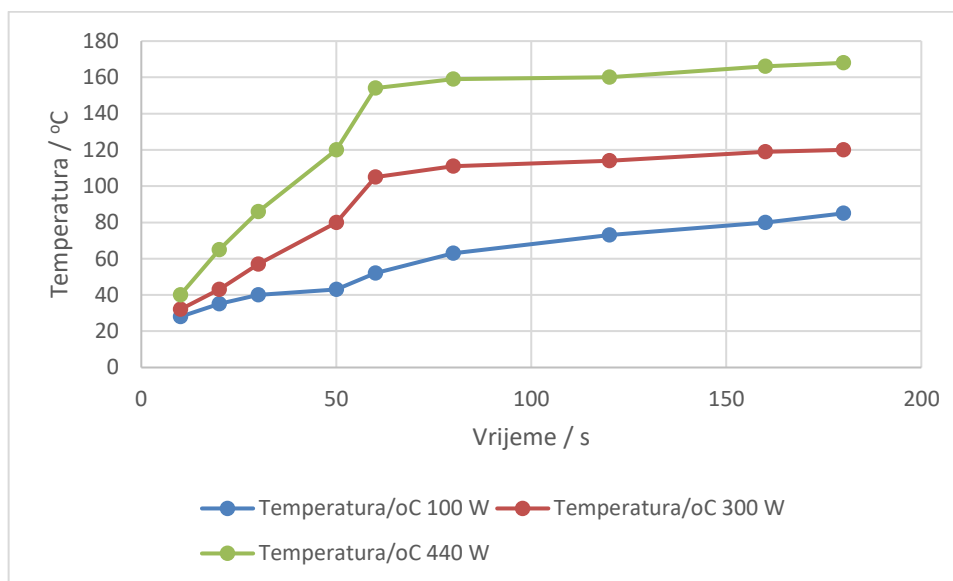
Tablica 3 Vrijeme reakcija i prinosi produkta u konvencionalnoj metodi provedenoj u eutektičkim otapalima na bazi ChCl-a

R. br.	Eutektičko otapalo	Omjer ChCl : HBD*	Vrijeme (h)	Prinos (%) 1	Prinos (%) 2	Prinos (%) 3
1	ChCl : Urea	1 : 2	3	2,81	-	-
2	ChCl : N-metilurea	1 : 3	3	8,40	u tragovima	u tragovima
3	ChCl : Tiourea	1 : 2	3	u tragovima	-	-
4	ChCl : Glicerol	1 : 2	3	8,43	46,99	u tragovima
5	ChCl : Acetamid	1 : 2	3	3,94	-	-
6	ChCl : Jabučna kiselina	1 : 1	3	7,03	u tragovima	10
7	ChCl : Limunska kiselina	1 : 2	3	1,41	-	-
8	ChCl : Vinska kiselina	1 : 1	3	u tragovima	-	-
9	ChCl : Malonska kiselina	1 : 1	3	7,03	-	-
10	ChCl : Oksalna kiselina	1 : 1	3	u tragovima	-	-
11	ChCl : Mliječna kiselina	1 : 2	3	u tragovima	-	-
12	ChCl : Levulinska kiselina	1 : 2	3	u tragovima	u tragovima	u tragovima

*ChCl – kolin-klorid; HBD – donor vodikove veze, * identificiran TLC-om, ali nije izoliran – nisu izvedene sinteze

4.2. REZULTATI MIKROVALNE SINTEZE

Izbor optimalne snage izvršen je na primjeru kvaternizacije INA i 2-brom-4'-kloracetofenona. Najniža snaga mikrovalne pećnice od 100 W utjecala je na polagano zagrijavanje reakcijske smjese. Pri toj se snazi produkt se nije pojavio niti nakon 3 minute zagrijavanja. Nadalje zagrijavanjem pri snazi od 300 W produkt je vidljiv na TLC-u već nakon 1 minute, a do raspada eutektika nije došlo niti nakon 20 minuta. Zagrijavanje na snazi od 440 W uzrokovalo je brzu pojavu produkta, već nakon pola minute, međutim došlo je do razgradnje eutektika vrlo brzo i do pojave niza sporednih produkata koji otežavaju pa čak i onemogućuju pročišćavanje produkta. Za optimalnu je snagu uzeta snaga od 300 W. Pri toj se snazi eutektik ChCl : glicerol zagrijao za samo jednu minutu na 100 °C. Zanimljivo je da pri snazi od 100 W i temperaturi nižoj od 100 °C nije bio identificiran produkt dok je pri snazi od 300 W nakon prve minute i temperature više od 100°C identificiran produkt (**Slika 13**). Vrijeme zračenja je za svaki eutektik različito obzirom da su eutektici različite polarnosti pa različito apsorbiraju mikrovalno zračenje što utječe na tijek odvijanja mikrovalne sinteze.



Slika 13 Temperaturni profil reakcije kvaternizacije INA i 2-brom-4'-kloracetofenon u ovisnosti o snazi mikrovalnog zračenja

Optimizacija mikrovalne sinteze provedena je u reakciji kvaternizacije izonikotinamida i 2-brom-4'-kloracetofenona u eutektičkom otapalu kolin-klorid : glicerol (**Tablica 4**).

Tablica 4 Optimizacija reakcije kvaternizacije izonikotinamida i 2-brom-4'-kloracetofenona u ChCl : glicerol pod utjecajem mikrovalnog zračenja

Snaga	Vrijeme/s	Iskorištenje
100/300	180/100	u tragovima
300	60	5,62
440	60	uz raspad

Tablica 5 Vrijeme reakcija i prinosi produkta za spoj **1** u metodi pod utjecajem mikrovalnog zračenja provedenoj u eutektičkim otapalima na bazi ChCl-a

R. br.	Eutektičko otapalo	Omjer ChCl : HBD*	Vrijeme (s)	Prinos (%) 1
1	ChCl : Urea	1 : 2	60	5,62
2	ChCl : <i>N</i> -metilurea	1 : 3	120	u tragovima
3	ChCl : Tiourea	1 : 2	90	29,53
4	ChCl : Glicerol	1 : 2	60	5,62
5	ChCl : Acetamid	1 : 2	30	u tragovima
6	ChCl : Jabučna kiselina	1 : 1	300	25,31
7	ChCl : Limunska kiselina	1 : 2	300	7,03
8	ChCl : Vinska kiselina	1 : 1	60	16,88
9	ChCl : Malonska kiselina	1 : 1	180	8,43
10	ChCl : Oksalna kiselina	1 : 1	300	9,84
11	ChCl : Mliječna kiselina	1 : 2	30	u tragovima
12	ChCl : Levulinska kiselina	1 : 2	240	19,69

*ChCl – kolin-klorid; HBD – donor vodikove veze, * identificiran TLC-om, ali nije izoliran –nisu izvedene sinteze

Preostala dva supstituirana 2-bromacetofenona (4-H, 4-CH₃) otopljena su u četiri eutektička otapala koja su dala najveće prinose prilikom optimizacije reakcije kvaternizacije (Tablica 6).

Tablica 6 Vrijeme reakcija i prinosi produkta za spojeve **2** i **3** u metodi pod utjecajem mikrovalnog zračenja provedenoj u eutektičkim otapalima na bazi ChCl-a

R. br.	Eutektičko otapalo	Omjer ChCl:HBD *	Vrijeme (s) 2	Prinos (%) 2	Vrijeme (s) 3	Prinos (%) 3
1	ChCl : <i>N</i> -metilurea	1 : 3	60	u tragovima	30	55
2	ChCl : Glicerol	1 : 2	60	54,83	60	97,5
3	ChCl : Jabučna kiselina	1 : 1	60	65,27	60	52,5
4	ChCl : Levulinska kiselina	1 : 2	60	88,77	60	95

Iz navedenih podataka i provednih reakcija pod utjecajem mikrovalnog zračenja zaključeno je kako su najbolji uvjeti za provođenje kvaternizacije izonikotinamida i supstituiranih 2-bromacetofenona pod utjecajem mikrovalnog zračenja od 1 minute i pri snazi od 300 W u eutektičkom otapalu kolin-klorid : levulinska kiselina (1 : 2) pri čemu je iskorištenje reakcije kvaternizacije s 2-bromacetofenonom iznosilo 88,77 %, a s 2-brom-4'-metilacetofenonom 95 %. Prinos kvaternizacije s 2-bromacetofenonom u eutektičkom otapalu ChCl : glicerol (1 : 2) iznosio je 54,83 %, a s 2-brom-4'-metilacetofenonom 97,5%. Eutektičko otapalo ChCl : jabučna kiselina također se pokazalo pogodnim pri čemu je prinos kvaternizacije s 2-bromacetofenonom iznosio 65,27 %, a s 2-brom-4'-metilacetofenonom 52,5 %.

4.3. REZULTATI ULTRAZVUČNE SINTEZE

Iz navedenih podataka i provednih reakcija pod utjecajem ultrazvuka zaključeno je kako je najbolji medij za provođenje kvaternizacije za spoj **1** bilo eutektičko otapalo kolin-klorid : glicerol (1 : 2) pri čemu je prinos iznosio 28,12 %, za spoj **2** ChCl : levulinska kiselina 93,99 % te za spoj **3** ChCl : N-metilurea (35 %).

Tablica 7 Vrijeme reakcija i prinosi produkta za spojeve **1**, **2** i **3** u ultrazvučnoj metodi provedenoj u eutektičkim otapalima na bazi ChCl-a

R. br.	Eutektičko otapalo	Omjer ChCl : HBD*	Vrijeme (h)	Prinos (%) 1	Prinos (%) 2	Prinos (%) 3
1	ChCl : Urea	1 : 2	3	7,03	-	-
2	ChCl : <i>N</i> -metilurea	1 : 3	3	23,9	49,60	35
3	ChCl : Tiourea	1 : 2	3	Identificiran	-	-
4	ChCl : Glicerol	1 : 2	3	28,12	83,55	27,5
5	ChCl : Acetamid	1 : 2	3	9,84	-	-
6	ChCl : Jabučna kiselina	1 : 1	3	25,31	10,44	32,5
7	ChCl : Limunska kiselina	1 : 2	3	Identificiran	-	-
8	ChCl : Vinska kiselina	1 : 1	3	Identificiran	-	-
9	ChCl : Malonska kiselina	1 : 1	3	9,84	-	-
10	ChCl : Oksalna kiselina	1 : 1	3	23,9	-	-
11	ChCl : Mliječna kiselina	1 : 2	3	9,84	-	-
12	ChCl : Levulinska kiselina	1 : 2	3	18,28	93,99	17,5

*ChCl – kolin-klorid; HBD – donor vodikove veze, * identificiran TLC-om, ali nije izoliran – nisu izvedene sinteze

4.4. KARAKTERIZACIJA DOBIVENIH PRODUKATA

Kemijske strukture dobivenih spojeva određene su spektroskopskim metodama i to pomoću IR spektroskopije NMR spektroskopije, elementarne analize i masene spektroskopije. IR spektroskopijom su vidljive apsorpcijske vrpce koje odgovaraju istezanju $\nu\text{N-H}$, νNH_2 , νNH_2 i $\delta\text{N-C-C}$ skupina pri 3400, 3350, 3180, 1690–1650 cm^{-1} . Vidljiva je također i apsorpcijska vrpca istezanja veze C=O u području između 1800 i 1650 cm^{-1} . Apsorpcijske vrpce aromatskih prstenova $\nu\text{C-C}_{\text{Ar}}$ vidljive su pri 1650, 1580, 1400 cm^{-1} dok su vrpce između aromatskih ugljikovih i vodikovih atoma $\nu\text{C-H}_{\text{Ar}}$ vidljive pri 3030, 3010 cm^{-1} . (U prilogu, slike 14 do 16)

U masenim su spektrima identificirani kationski oblici dobivenih kvaternih soli (1-3). (U prilogu, slike 17 do 19)

Broj, multiplicitet i integrali NMR signala odgovaraju očekivanim molekularnim strukturama. Aromatično područje ^1H -NMR spektara sadrži četiri signala iz piridinske skupine (od H-2 do H-6), dva signala iz amidne skupine (NH_2) i dva dubleta, koji odgovaraju fenilnim protonima (H-10/14 i H-11/13). Sve aromatske ^{13}C jezgre nađene su u rasponu 150 - 120 ppm. (U prilogu, slike 20 do 25)

Tablica 8 Karakterizacija dobivenih produkata

4-karbamoil-1-(2-(4-klorfenil)-2-oksoetil)piridinijev bromid – Spoj 1	t.t. 271,5–272 °C, IR (KBr) $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3977,0; 3235,3; 3160,8; 2892,4; 2668,8; 2109,7; 1923,3; 1685,5; 1662,4; 1341,8; 1237,5; 923, 820
	^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ/ppm : 9,23 (d, 2H, $J = 6,91$ Hz, H-2, H-6), 8,78 (br s, 1H, NHa), 8,58 (d, 2H, $J = 6,91$ Hz, H-3, H-5), 8,32 (br s, 1H, NHb), 8,10 (d, 2H, $J = 8,65$ Hz, H-10, H-14), 7,76 (d, 2H, $J = 8,65$ Hz, H-11, H-13), 6,65 (s, 2H, H-7, H-7')
	^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ/ppm : 189,5 (C-8), 163,4 (CONH_2), 149,1 (C-4), 147,1 (C-2, C-6), 139,5 (C-12), 132,2 (C-9), 130,1 (C-10, C-14), 129,2 (C-11, C-13), 125,6 (C-3, C-5), 66,1(C-7)
	MS m/z 276,20 [M^+](100)
	Elementarna analiza za $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{BrClN}_2\text{O}_2$ ($M_r = 355,6$) rač: C 47,29; H 3,40; Br 22,47; Cl 9,97; N 7,88; O 9,00; nađ: C 47,00; H 3,34; N 7,70 %

4-karbamoil-1-(2-okso-2-feniletil)piridinijev bromid – Spoj 2	t.t. 236,5–238 °C; IR (KBr) $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3339,7; 3235,3; 3138,4; 2892,4; 2832,8; 2117,1; 1915,8; 1677,3; 1297,1; 1617,7; 1452,7; 1207,7; 1148,0; 984,0; 767,8 cm^{-1}
	^1H NMR (DMSO- d_6) δ/ppm : 9,23 (d, 2H, $J = 6,66$ Hz, H-2, H-6), 8,78 (br s, 1H, NHa), 8,58 (d, 2H, $J = 6,66$ Hz, H-3, H-5), 8,33 (br s, 1H, NHb), 8,09 (dd, 2H, $J = 8,17, 1,26$ Hz, H-10, H-14), 7,80 (tt, 1H, $J = 7,39, 1,01$ Hz, H-12), 7,68 (t, 2H, $J = 7,98$ Hz, H-11, H-13), 6,65 (s, 2H, H-7, H-7')
	^{13}C NMR (DMSO- d_6) δ/ppm : 190,4 (C-8), 163,5 (CONH $_2$), 149,1 (C-4), 147,2 (C-2, C-6), 134,7 (C-12), 133,4 (C-9), 129,1 (C-11, C-13), 128,3 (C-10, C-14), 125,6 (C-3, C-5), 66,3 (C-7)
	MS m/z 241 [M^+](100)
	Elementarna analiza za C $_{14}$ H $_{13}$ N $_2$ O $_2$ Br ($M_r = 321.2$): rač: C 52,36; H 4,08; N 8,72 O 9,96; nađ: C 52,40, H 3,78, N 8,74 %
4-karbamoil-1-(2-okso-2-(<i>p</i>-tolil)etil)piridinijev bromid) - Spoj 3	t.t. 232,5–250,9 °C; IR (KBr) $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3324,8; 3011,7; 2780,6; 2087,3; 1848,8; 1808,4; 1677,3; 1446,2; 1386,6; 1118,2; 775,3
	^1H NMR (DMSO- d_6) δ/ppm : 9,22 (d, 2H, $J = 6,95$ Hz, H-2, H-6), 8,76 (br s, 1H, NHa), 8,57 (d, 2H, $J = 6,93$ Hz, H-3, H-5), 8,30 (br s, 1H, NHb), 7,98 (d, 2H, $J = 8,24$ Hz, H-10, H-14), 7,48 (d, 2H, $J = 8,24$ Hz, H-11, H-13), 6,61 (s, 2H, H-7, H-7'), 2,44 (s, 3H, CH $_3$)

	¹³ C NMR (DMSO- <i>d</i> ₆) δ /ppm: 189,9 (C-8), 163,5 (CONH ₂), 149,0 (C-4), 147,1 (C-2, C-6), 145,4 (C-12), 130,9 (C-9), 129,6 (C-11, C-13), 128,3 (C-10, C-14), 125,5 (C-3, C-5), 66,1 (C-7), 21,3 (CH ₃)
	MS <i>m/z</i> 255 [M ⁺] (100)
	Elementarna analiza za C ₁₅ H ₁₅ BrN ₂ O ₂ (<i>M_r</i> = 335.2): rač: C 53,75; H 4,51; Br 23,84; N 8,36; O 9,55; nađ: C 53,39; H 4,56; N 8,37 %

5. ZAKLJUČAK

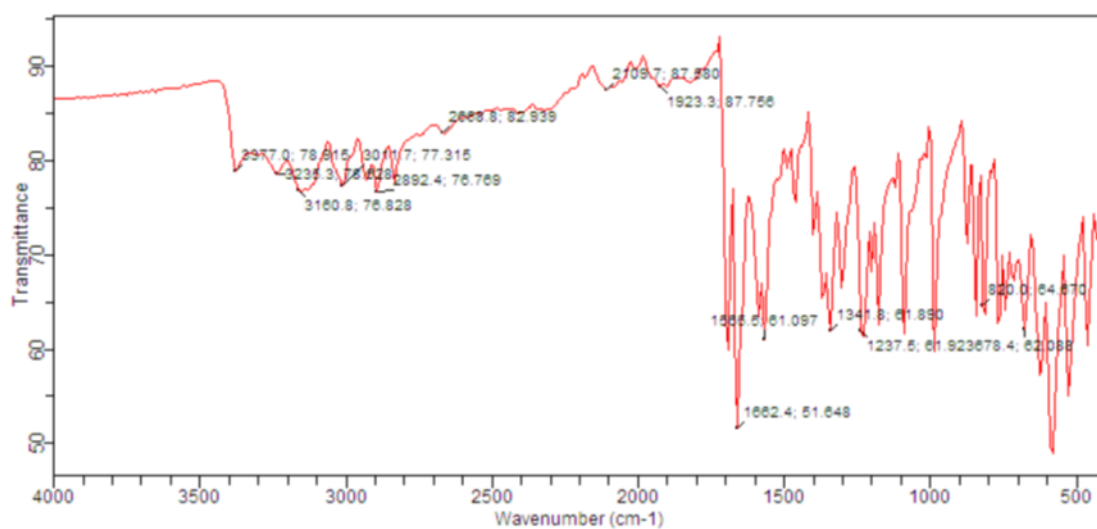
- Nakon provedenih reakcija utvrđeno je kako su najbolja eutektička otapala za kvaternizaciju izonikotinamida i supstituiranih 2-bromacetofenona ChCl : glicerol, ChCl : jabučna kiselina, ChCl : *N*-metilurea, ChCl : levulinska kiselina.
- Konvencionalnom su metodom dobivena vrlo niska iskorištenja. Neki su produkti bili identificirani TLC-om, ali produkti nisu izolirani. Najviše iskorištenje konvencionalnom metodom dobiveno je u reakciji kvaternizacije izonikotinamida i 2-bromacetofenona (47 %) u eutektičkom otapalu ChCl : glicerol 1 : 2.
- Mikrovalnom je metodom znatno skraćeno reakcijsko vrijeme s nekoliko sati na nekoliko minuta pa čak i sekundi i uz znatno veće iskorištenje pri čemu je gotovo kvantitativan prinos postignut kvaternizacijom izonikotinamida i 2-bromacetofenona u eutektičkom otapalu ChCl : glicerol 1 : 2.
- Ultrazvučnom metodom su također dobivena viša iskorištenja u odnosu na konvencionalnu metodu pri čemu je u reakciji kvaternizacije izonikotinamida i 2-bromacetofenona u eutektičkom otapalu ChCl : levulinska kiselina 1 : 2 dobiveno najviše iskorištenje (94 %).
- Mikrovalna sinteza pokazala je niz prednosti u reakciji kvaternizacije: skraćeno reakcijsko vrijeme i veće prinose za sva tri produkta, međutim glavni nedostaci u mikrovalnoj sintezi su lokalno pregrijavanje koje dovodi do raspada eutektičkog otapala te do brojnih drugih nusprodukata što dodatno otežava pročišćavanje produkta.

6. LITERATURA

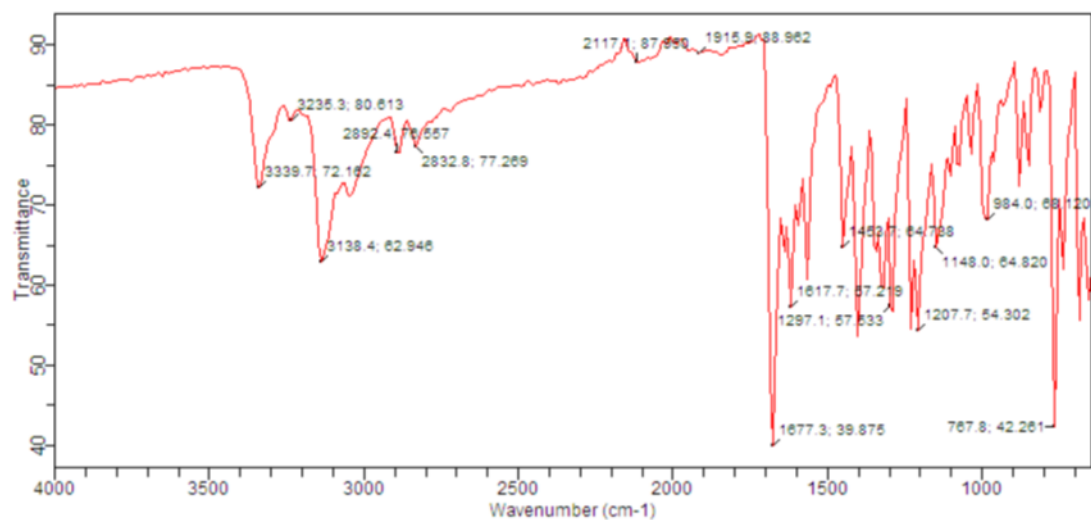
- 1) Bušić V., Pavlović H., Roca S., Vikić-Topić D., Gašo-Sokač D.: Microwave-assisted Quaternization of Various Pyridine Derivatives and their Antibacterial Activity. *Croat. Chem. Acta*, 90(3), 425–433, 2017.
- 2) Choi H-E., Choi J-H., Lee J. Y. , Kim J. H., Lee J. K., Kim G. I., Park Y., Chi Y. H., Paik S. H., Lee J. H., Lee K-T.: Synthesis and evaluation of nicotinamide derivative as anti-angiogenic agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2013.
- 3) Drmić H. i Režek Jambrak A.: Ultrazvučna ekstrakcija bioaktivnih spojeva. *Croat. J. Food Sci. Technol.*, 2 (2): 22-33, 2010.
- 4) Eckert-Maksić M. i Zrinski I.: Primjena mikrovalnog zračenja u organskoj sintezi. *Kem. Ind.*, 54(11): 469-476, 2005.
- 5) Gorzinsky Smith J.: *Organic chemistry*. McGraw-Hill, New York, 2011.
- 6) Hranjec M.: *Sinteze potpomognute mikrovalovima*. Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilište u Zagrebu, nastavni tekst, 2017.
- 7) Jukić M., Đaković S., Filipović-Kovačević Ž., Kovač V., Vorkapić-Furač J.: Dominantni trendovi zelene kemije. *Kem. Ind.*, 54(5): 255–272, 2005.
- 8) Molnar M., Klenkar J., Tarnai T.: Eco- friendly rapid synthesis of 3-substitued-2-thioxo-2,3- dihydroquinazolin-4(1H)-ones in choline chloride based deep eutectic solvent. *Journal Synthetic Communications* 47:1040-1045, 2017.
- 9) Pine S.H.: *Organska kemija*. Zagreb, Školska knjiga Zagreb, 1994.
- 10) Puri S., Kaur B., Parmar A., Kumar H.: Applications of Ultrasound in Organic Synthesis - A Green Approach. *Current Organic Chemistry*, 17, 1790-1828, 2013.
- 11) Schofield K.: *Hetero-aromatic nitrogen compounds*. Springer Science, Buisines Media New York, 1967.
- 12) Siber T., Bušić V., Zobundžija D., Roca S., Vikić-Topić D., Vrandečić K., Gašo-Sokač D.: An Improved Method for the Quaternization of Nicotinamide and Antifungal Activities of Its Derivatives. *Molecules*, 24, 1001, 2019.
- 13) Smith L.E., Abbot P.A., Ryder K.A.: Deep eutectic solvents (DES) and their applcations. *Chemical Rewievs*, 114:11060-11082, 2014.

- 14) Stanley E. Manahan: Green chemistry and the ten commandments of sustainability. ChemChar Research, Inc., 2nd ed, Columbia, Missouri, 2006.
- 15) Zhang Q., Vigier K.O., Royer S., Jerome F.: Deep eutectic solvents: syntheses, properties and applications. Chemical Society Reviews 41:7108-7146, 2012.

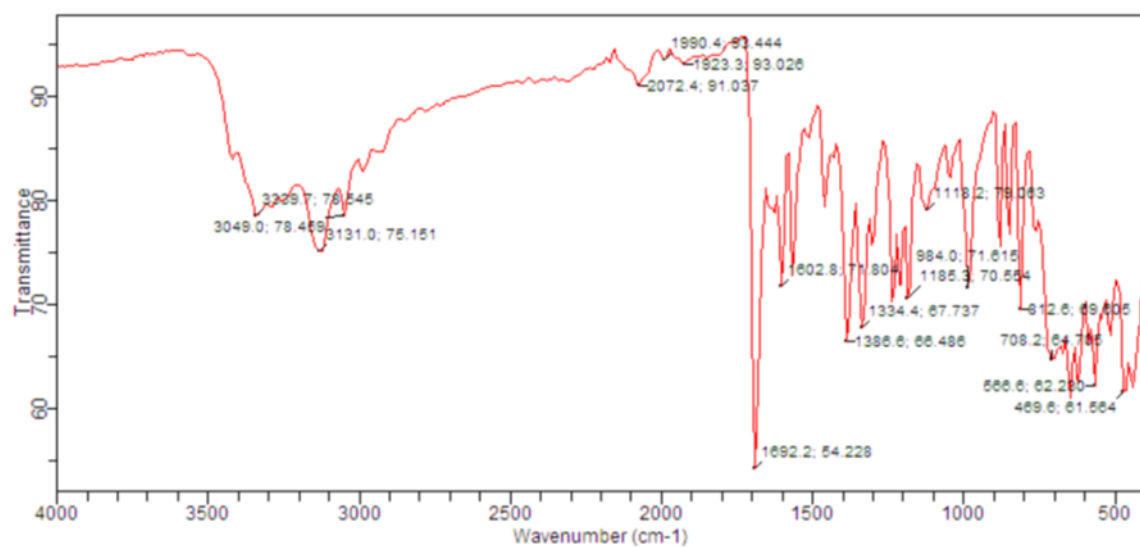
7. PRILOZI



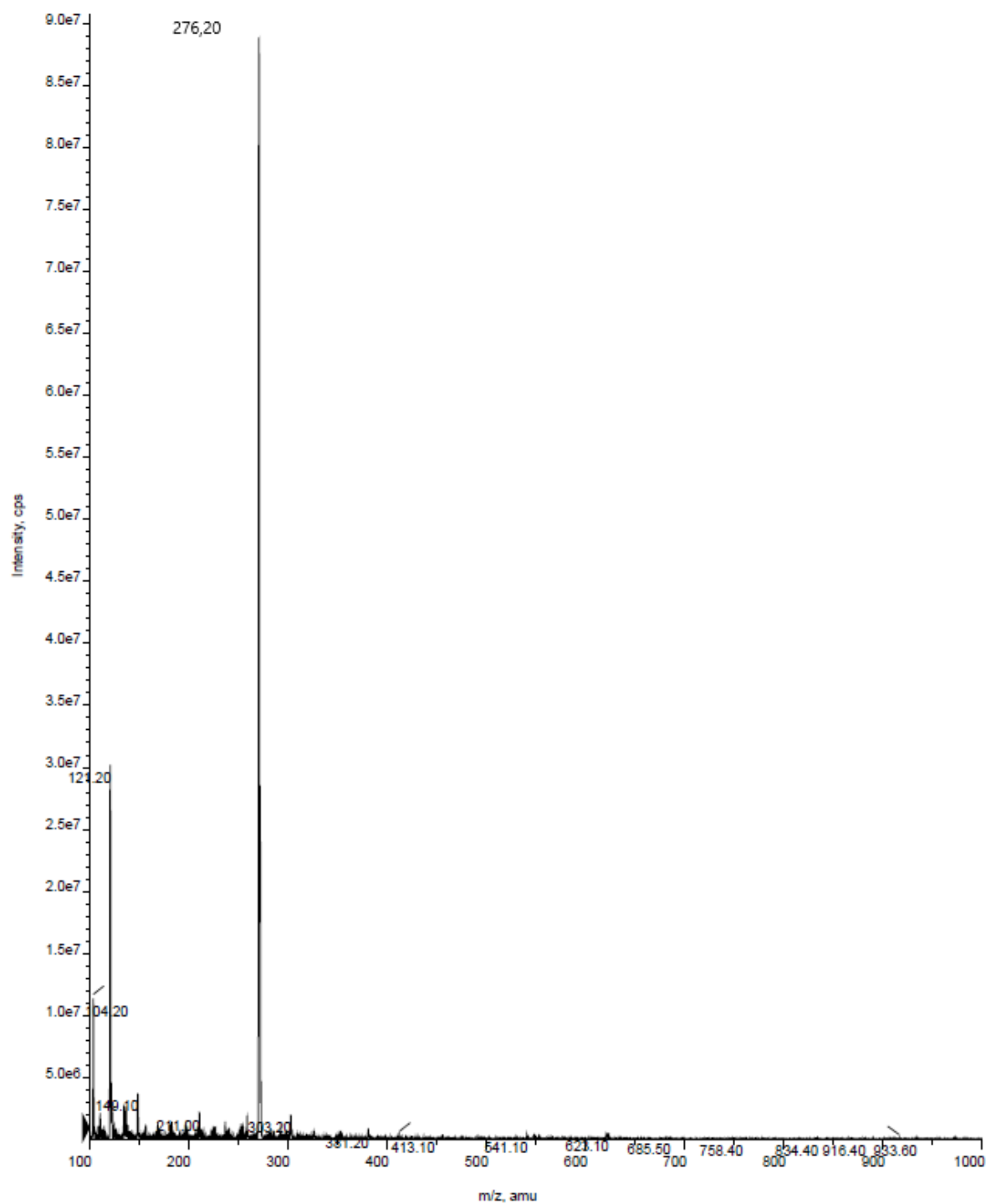
Slika 14 IR spektar spoja 1



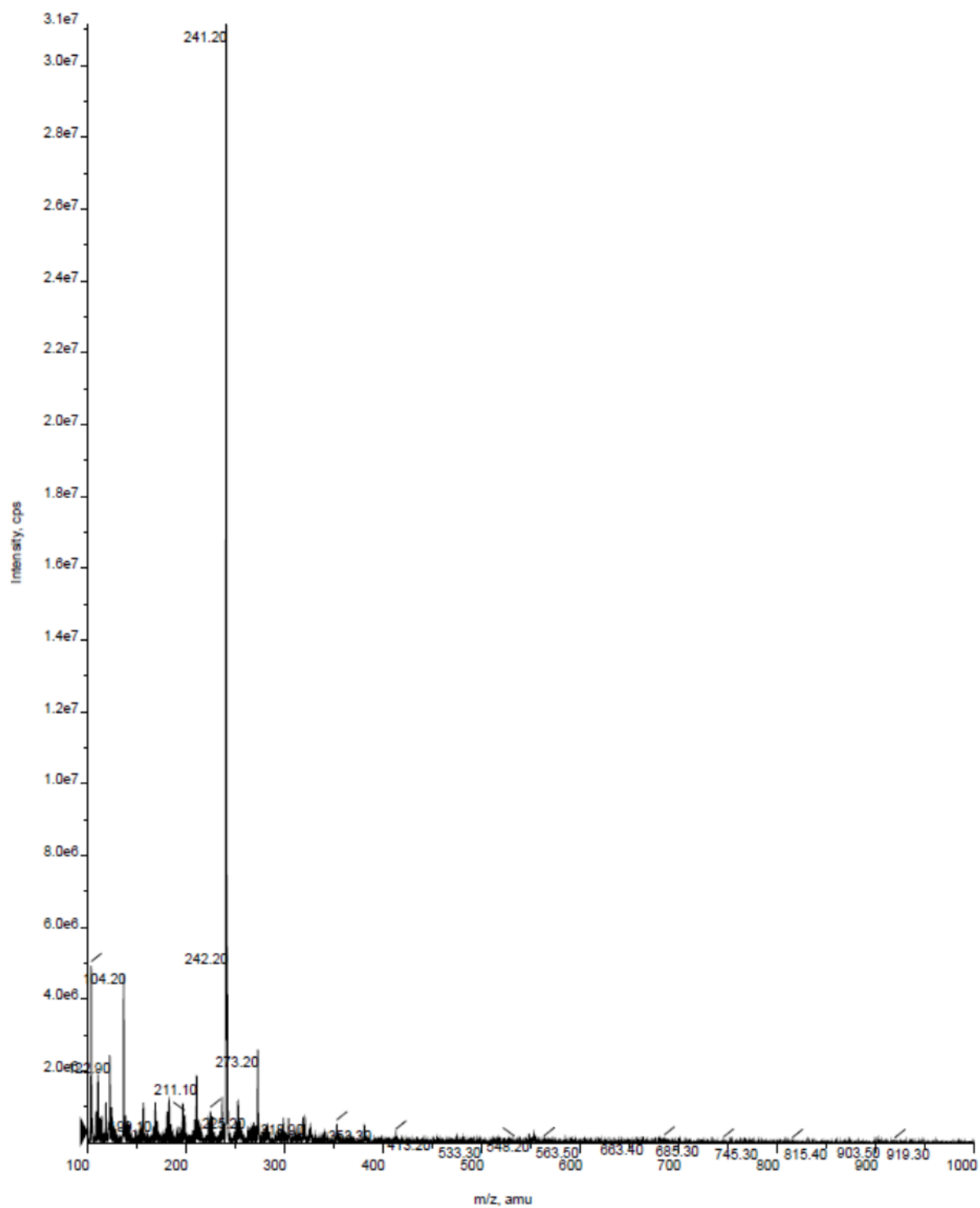
Slika 15 IR spektar spoja 2



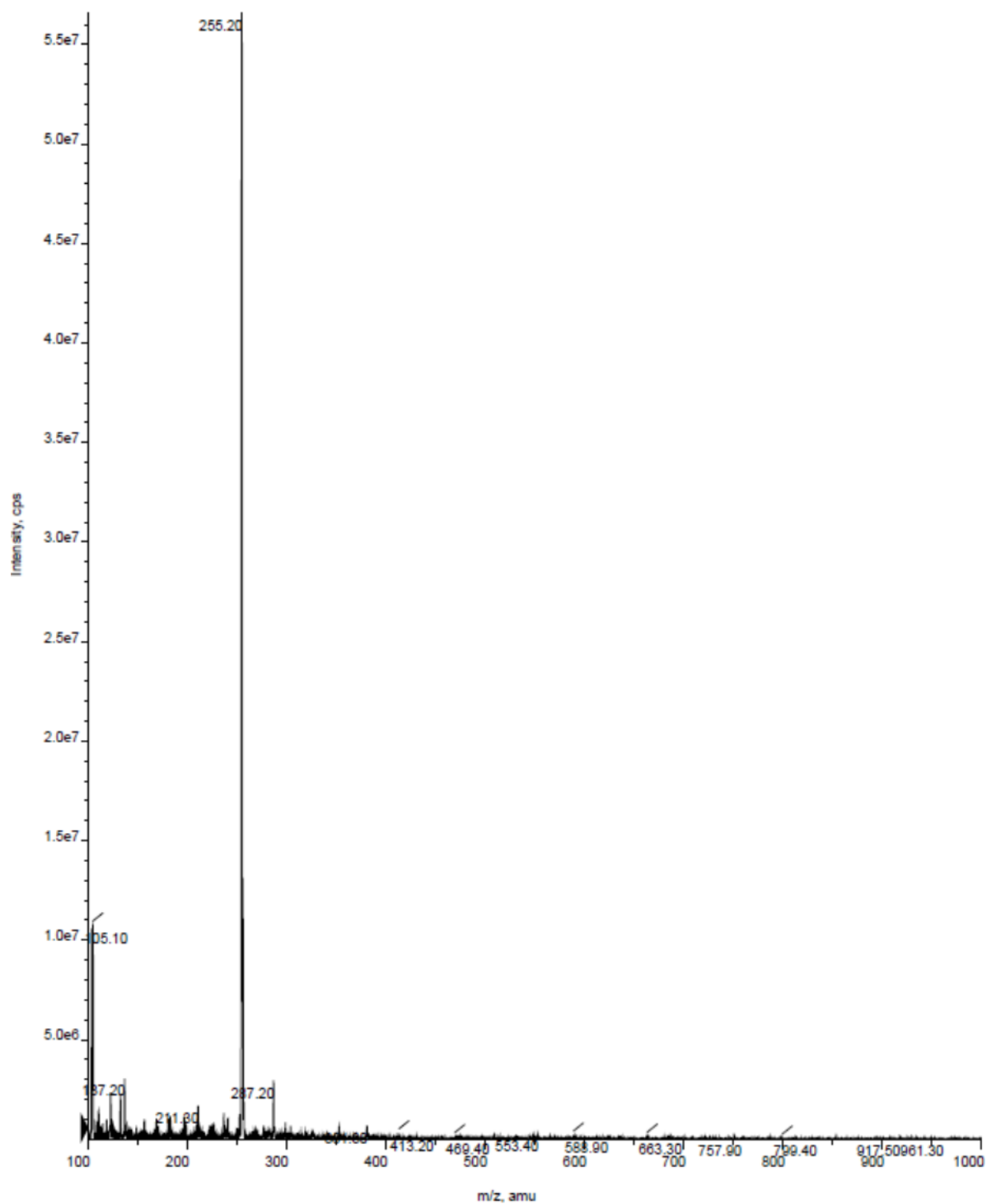
Slika 16 IR spektar spoja **3**



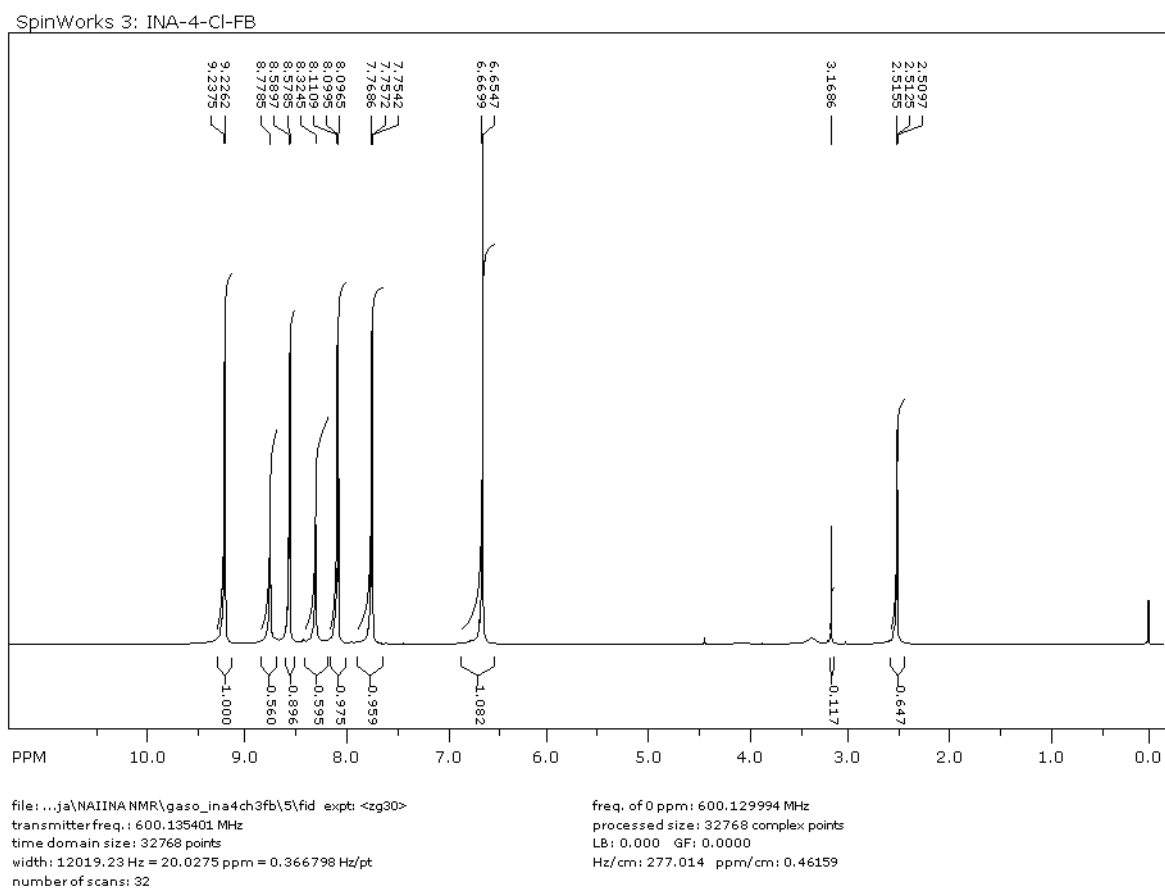
Slika 17 Maseni spektar spoja **1** u pozitivnom modu

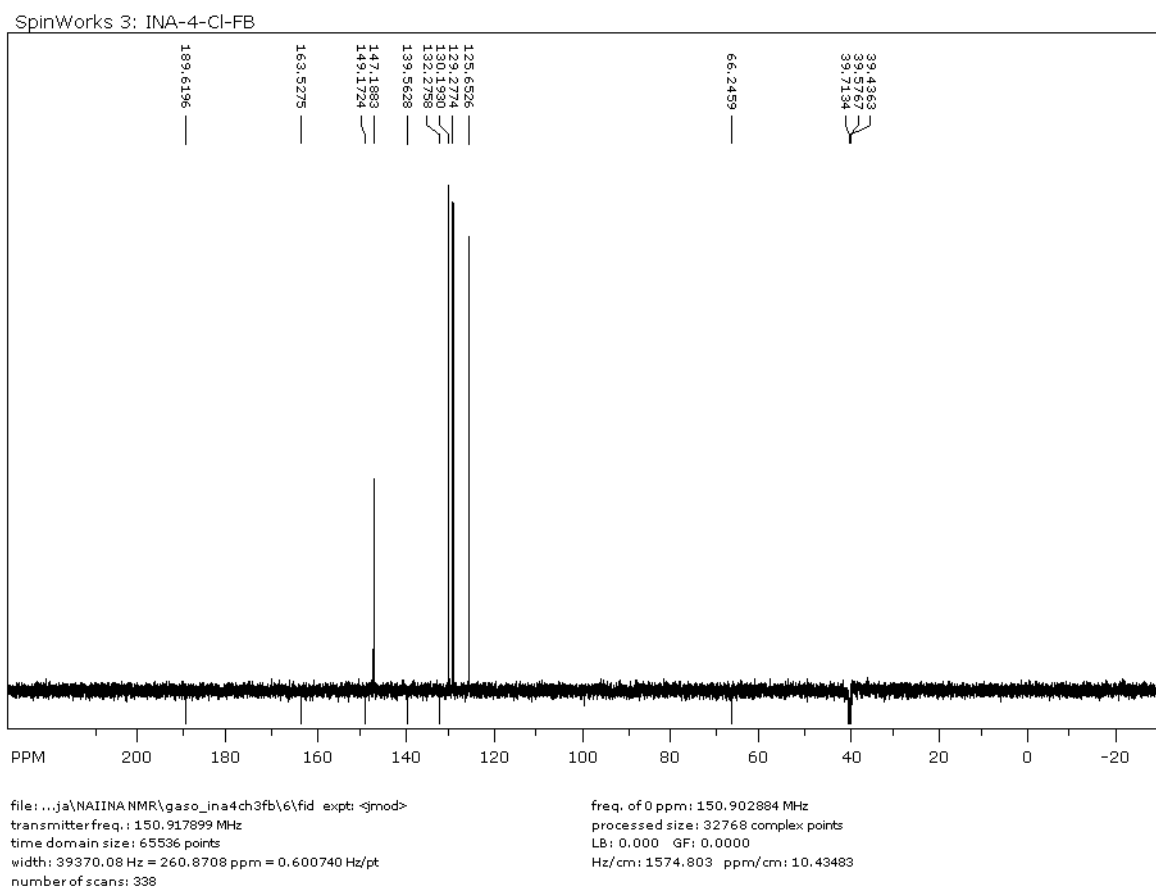


Slika 18 Maseni spektar spoja 2 u pozitivnom modu

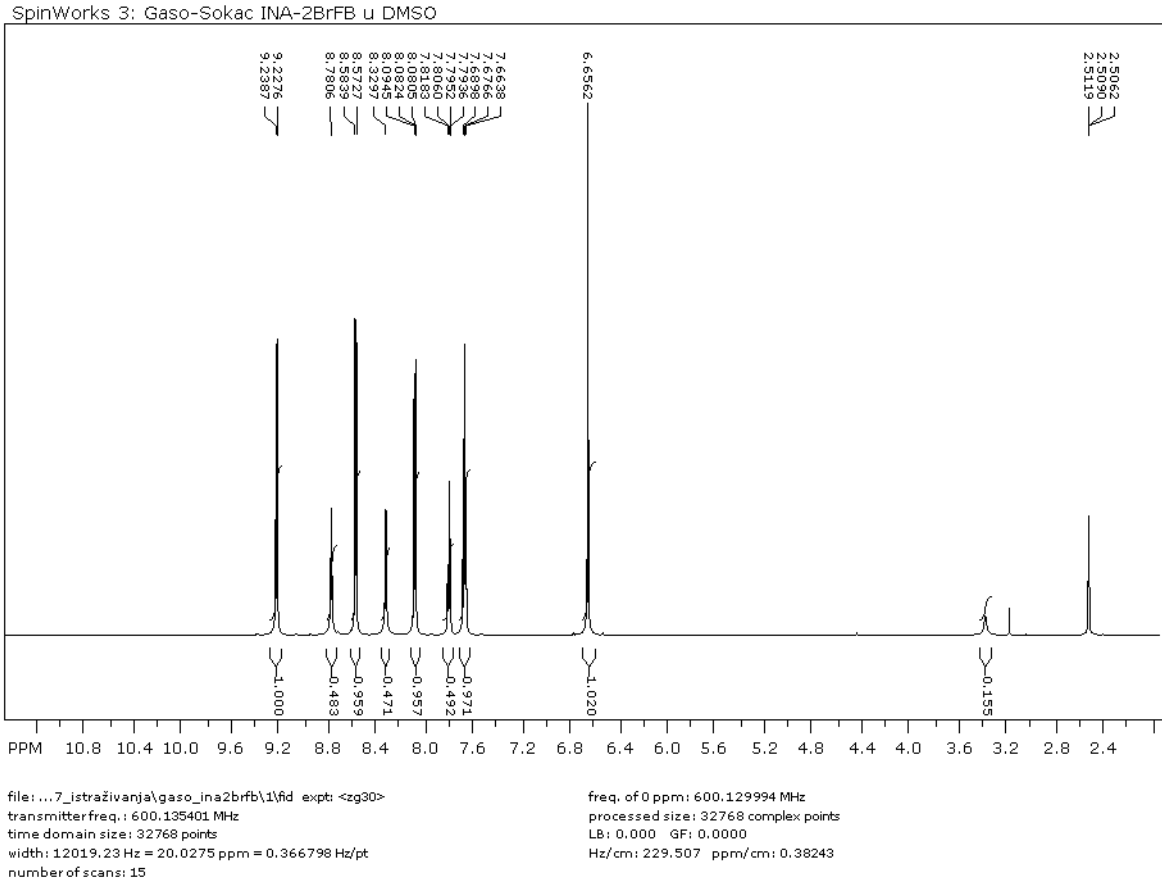


Slika 19 Maseni spektar spoja **3** u pozitivnom modu

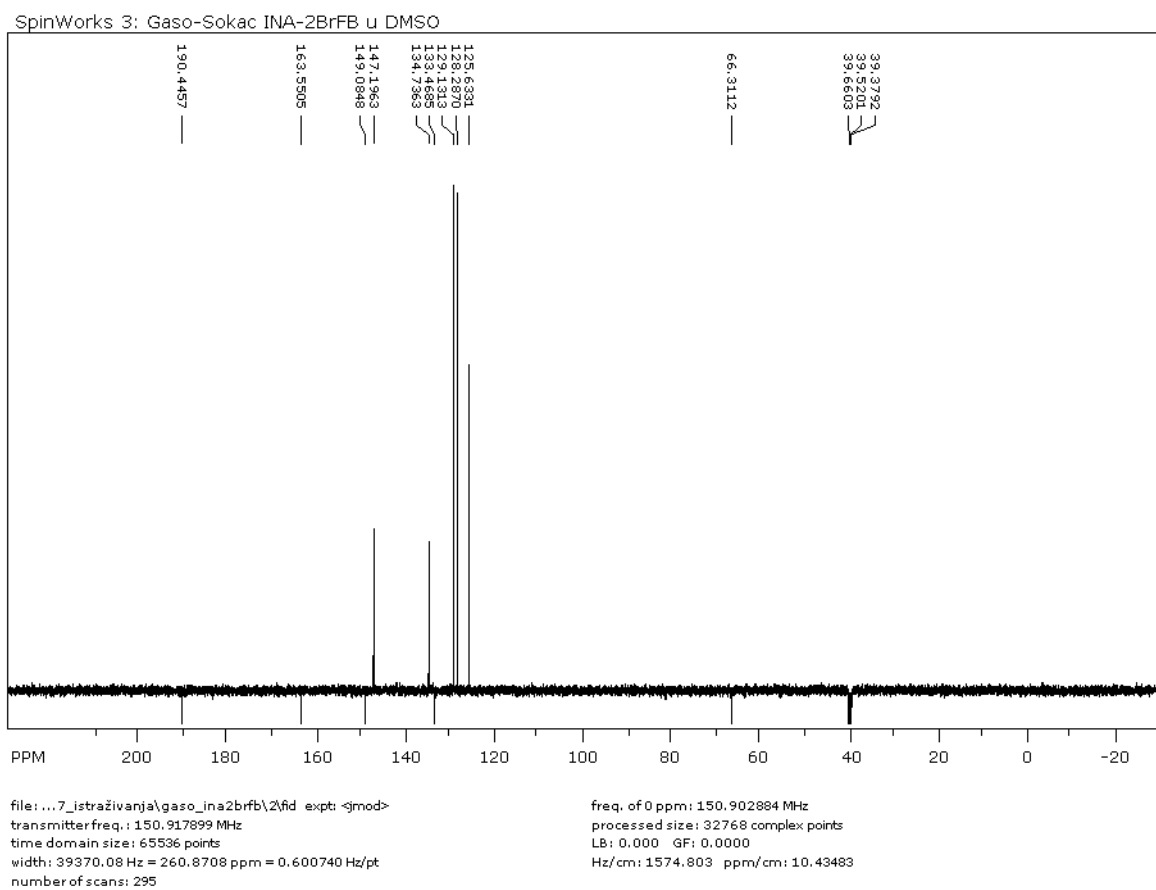
Slika 20 ^1H NMR spektar spoja 1



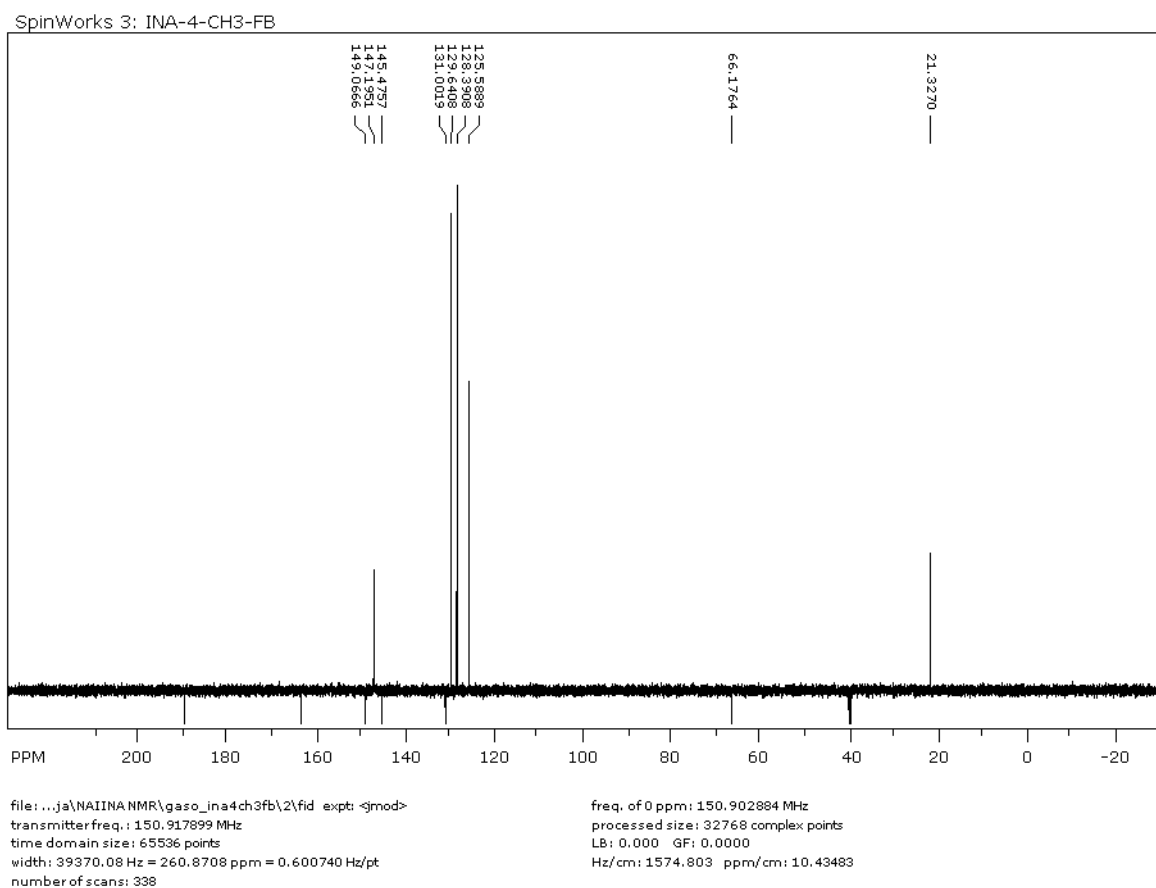
Slika 21 ^{13}C NMR spektar spoja 1



Slika 22 ^1H NMR spektar spoja **2**

Slika 23 ^{13}C NMR spektar spoja 2





Slika 25 ^{13}C NMR spektar spoja 3